

Departement für Pferde der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich
Direktor: Prof. Dr. med. vet. Dr. h. c. Jörg A. Auer, MS, Dipl. ACVS/ECVS

Arbeit unter Leitung von Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS
Musculoskeletal Research Unit

**Evaluierung chronischer Veränderungen des Schultergelenkes infolge
chirurgischer Durchtrennung des Sehnenansatzes des *Musculus infraspinatus*
beim Schaf**

Inagural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Vorgelegt von
Elena Salesov
Tierärztin
von Schachta, Russland

Genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. med. vet., Dipl. ECVS Brigitte von Rechenberg, Referentin
Prof. Dr. med. Christian Gerber, Korreferent

Zürich 2010

Meiner Familie

**“To realize one`s Personal Legend is a person`s only real
obligation...
And, when you want something, all the universe conspires in
helping you to achieve it.”**

**P. Coelho
The Alchemist**

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	3
ZUSAMMENFASSUNG	5
SUMMARY	6
1. EINLEITUNG	7
2. LITERATUR.....	8
2.1. Aufbau und Stabilität des Schultergelenkes.....	8
2.2. Knorpelaufbau des gesunden Schultergelenkes.....	10
2.2.1. Biochemische Zusammensetzung	10
2.2.2. Schichtenaufbau	12
2.3. Osteoarthritis	12
2.4. Mikroskopische Beurteilung des Knorpelgewebes.....	15
2.5. Ruptur der Manschettenmuskulatur und Entwicklung einer Omarthritis..	19
2.6. Schaf als Tiermodell für Osteoarthritis.....	20
3. MATERIAL UND METHODEN	21
3.1. Aufbau der Studie.....	21
3.2. Versuchstiere.....	21
3.3. Vorbereiten der Operationen	23
3.4. Durchführung der Operationen	24
3.4.1. Abtrennen der Sehne des <i>M. infraspinatus</i>	24
3.4.2. Fixation des Spanners	24
3.4.3. Refixation des <i>M. infraspinatus</i>	25
3.5. Postoperative Versorgung.....	25
3.6. Euthanasie der Versuchstiere und Probenentnahme.....	28
3.7. Anfertigung histologischer Präparate	28
3.8. Beurteilung der Knorpelschäden	29
3.9. Statistische Auswertung der Ergebnisse.....	31
4. ERGEBNISSE	32

4.1. Operative Eingriffe und Rehabilitation	32
4.2. Probenentnahme und Anfertigung der histologischen Schnitte.....	33
4.3. Histologische Beurteilung	34
4.3.1. Knorpeldicke.....	34
4.3.2. Randzonen des Glenoidknorpels.....	35
4.3.3. Bewertung der Knorpelveränderungen nach Mankin.....	36
4.3.4. Morphologie der Tidemark-Linie	41
5. DISKUSSION.....	44
5.1. Aufbau der Studie und Versuchstiere	44
5.2. Operative Eingriffe und Rehabilitation	45
5.3. Probenentnahme und Anfertigung histologischer Schnitte	47
5.4. Histologische Beurteilung	48
5.4.1. Knorpeldicke.....	48
5.4.2. Randzonen des Glenoidknorpels.....	50
5.4.3. Bewertung der Knorpelveränderungen nach Mankin.....	52
5.4.4. Morphologie der Tidemark-Linie	58
6. SCHLUSSFOLGERUNGEN UND AUSBLICK.....	60
7. LITERATURVERZEICHNIS.....	61
8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	65
9. ANHANG	66
9.1. Material und Methoden.....	66
9.1.1. Herstellen von Methylmetacrylat.....	66
9.1.2. Toluidinblau-O-Färbung.....	66
9.1.3. Van Kossa/McNeal Tetrachrom-Färbung.....	67
9.2. Ergebnisse	68
9.2.1. Bilder	68
9.2.2. Tabellen.....	69
DANKSAGUNG	73

Zusammenfassung

In der vorliegenden Forschungsarbeit wurden die Knorpelveränderungen im Schultergelenk nach experimenteller operativer Durchtrennung und Refixation des Sehnenansatzes des Musculus infraspinatus evaluiert. Die Knorpelbeurteilung erfolgte nach dem Mankin Gradierungssystem. Zusätzlich wurde eine semiquantitative Beurteilung der Integrität der Tidemark-Linie durchgeführt und mit dem Mankin Gradierungssystem verglichen.

Die Untersuchungen wurden an elf Schafen durchgeführt, die in zwei Gruppen eingeteilt wurden. Bei allen wurde die Durchtrennung des Sehnenansatzes vorgenommen und 12 Wochen später ein Spanner implantiert, der über 10 Wochen den M. infraspinatus dehnte. Anschließend wurde der Sehnenansatz bei 7 Schafen der ersten Gruppe planmäßig refixiert. Vier Tiere wurden wegen entstandener irreversibler Veränderungen im Bereich des Schultergelenkes vorzeitig euthanasiert und bildeten die zweite Gruppe.

Im Rahmen der Untersuchungen wurden strukturelle Merkmale des Schulterknorpels beim Schaf beschrieben. Es konnte belegt werden, dass die Durchtrennung des *M. infraspinatus* zur Instabilität des Gelenkes führt und die Entwicklung einer Osteoarthritis begünstigt. Eine Tendenz, jedoch keine signifikante Besserung der Osteoarthritis konnte nach der Refixation des Sehnenansatzes nachgewiesen werden. Der beschriebene Studienaufbau kann als Basismodell für die zukünftige Erforschung der Knorpelveränderungen im Schultergelenk bei Tier und Mensch verwendet werden.

Summary

This experimental study was performed to evaluate cartilage alterations in shoulder after experimental surgical release and repair of *Musculus infraspinatus* tendon in sheep. It should be proven, if the tendon release causes omarthritis and how the cartilage alterations are affected by tendon repair. The cartilage evaluation was done by using the Mankin Score. Additionally the integrity of tidemark was assessed semiquantitatively and compared to the Mankin Score.

Eleven Swiss Alpine sheep, served as experimental animals, where the infraspinatus tendon was cut with a greater tuberosity osteotomy. Twelve weeks later a special tension device was mounted on the scapular spine. It allowed to progressively pull on the *M. infraspinatus* over the next ten weeks. A reattachment of the infraspinatus tendon was performed in seven animals of the first group. Four sheep of the second group developed severe inflammation in the shoulder and were euthanized before reattachment.

In this study several structural features of shoulder cartilage in sheep were described. The study results support our hypothesis: the release of infraspinatus tendon leads to shoulder instability and promotes development of osteoarthritis. In contrast, a significant improvement of osteoarthritis after tendon refixation could not be demonstrated. The described animal model can be used as a base model for research of shoulder osteoarthritis in animals and humans.

1. Einleitung

Die Verletzungen der Manschettenmuskulatur (siehe Kapitel 2.1) sind in der Orthopädie gut bekannt. Schätzungsweise 30% der Patienten, die in der Humanmedizin bei Fachspezialisten vorgestellt werden, zeigen durch eine Ruptur der Manschettenmuskulatur entstandene Veränderungen¹. Sowohl in der Humanmedizin als auch in der Tiermedizin sind vor allem wiederholte Überbeanspruchung des Gelenkes (z. B. durch Leistungssport) und Traumata überwiegend für die Entstehung der Rissverletzungen verantwortlich. Es konnte bereits beobachtet werden, dass eine Verletzung der Manschettenmuskulatur zur Gelenkinstabilität führt und mit Entstehung einer Osteoarthritis (OA) vergesellschaftet ist^{2,3}. Außerdem wird die OA als eine Komplikation infolge einer chirurgischen Korrektur der Schultergelenkinstabilität beschrieben⁴. Es liegen derzeit jedoch keine Untersuchungen vor, die eine Entwicklung der OA als Folge einer partiellen Ruptur der Manschettenmuskulatur beschreiben und belegen. Das Ziel dieser Arbeit war, die Knorpelveränderungen im Schultergelenk nach experimenteller operativer Durchtrennung des Sehnenansatzes des *Musculus infraspinatus* zu beschreiben. Die experimentelle Durchtrennung des Sehnenansatzes ist mit einer partiellen Ruptur der Rotatorenmanschette bei Mensch und Tier vergleichbar. Des Weiteren sollten die Knorpelstrukturen der gesunden Gelenke (Kontrolle) und die der Gelenke nach Durchtrennung des Sehnenansatzes miteinander verglichen werden. Außerdem sollte der Einfluss chirurgischer Gelenkstabilisierung auf das Fortschreiten der Knorpelveränderungen evaluiert werden. Es wurden folgende Hypothesen aufgestellt:

- (1) operative Durchtrennung des Sehnenansatzes des *M. infraspinatus* führt durch Stabilitätsverlust im Schultergelenk zur Entstehung einer OA
 - (2) das Ausmaß krankhafter Knorpelveränderungen (Grad der OA) in einem instabilen Schultergelenk ist größer als in einem Kontrollgelenk
 - (3) chirurgische Refixation des Sehnenansatzes des *M. infraspinatus* führt zur Verbesserung der Stabilität im Schultergelenk, beugt dadurch das Fortschreiten der Knorpeldegeneration vor und begünstigt die Knorpelregeneration
- Es sollte zusätzlich geprüft werden, ob der beschriebene Versuchsaufbau als Tiermodell für die Entwicklung einer OA im Schultergelenk geeignet ist und für weitere Forschungszwecke verwendet werden kann.

2. Literatur

2.1. Aufbau und Stabilität des Schultergelenkes

Das Schultergelenk ist ein diarthrotisches Kugelgelenk. Es verbindet das konkave Glenoid des Schulterblattes (*Scapula*) mit dem Kopf des Oberarmknochens (*Humerus*). Beim Menschen beträgt die Gelenkoberfläche des Glenoids etwa ein Viertel bis ein Drittel der Gelenkoberfläche des Humeruskopfes^{5,6}. Die Stabilität des Gelenkes wird durch passive und aktive Mechanismen gewährleistet^{7,8}. Zu den passiven Mechanismen zählen Gelenkform, Gelenkklippe, Gelenkkapsel, glenohumerale Bänder sowie limitiertes Gelenkvolumen und Adhäsions-/Kohäsionsmechanismus (Zusammenhalt ungleicher und gleicher Moleküle)^{9,10}. Der aktive Stabilisator des Gelenkes ist die sogenannte Manschettenmuskulatur. Dazu gehören vier einzelne quergestreifte Muskeln: oberer Grätenmuskel oder *Musculus supraspinatus* (craniolateral), unterer Grätenmuskel oder *Musculus infraspinatus* (lateral), kleiner runder Muskel oder *Musculus teres minor* (caudolateral) und Unterschultermuskel oder *Musculus subscapularis* (medial). Zusätzlich sorgt der zweiköpfige Oberarmmuskel, *Musculus biceps brachii* (cranial) für Stabilität des Gelenkes. Diese Muskeln überspannen das Schultergelenk und verstärken mit ihren sehnigen Ansätzen die Gelenkkapsel. Somit bewirken sie nicht nur die Bewegung des Gelenkes, sondern sorgen auch dafür, dass die Gelenkflächen nah aneinander gehalten werden. In der Tab. 1 ist die Manschettenmuskulatur von Mensch und Schaf vergleichend beschrieben. Durch seine anatomische Struktur kann das Schultergelenk in jede Richtung bewegt werden. Bei Tieren arbeitet es jedoch vorwiegend als Scharniergelenk in Richtung der Beugung und Streckung^{11,12}. Ungeachtet seiner anatomischen Gegebenheiten und seiner Mobilität gilt dieses Gelenk als sehr stabil mit selten auftretenden Luxationen⁷.

Einer der Mechanismen der Schulterstabilität ist die Konkavitätskompression (*engl. concavity compression*). Diese wird zum einen durch die Konkavität der Glenoidfläche, zum anderen durch die Einwirkung der Kompressionskräfte bestimmt. Die Konkavität des Glenoids wird durch seine Form, Knorpelschicht, Gelenkklippe und glenohumerale Bänder mitbestimmt^{13,14}. Die Gelenkklippe macht beim Menschen etwa 50% der Glenoidtiefe aus¹³. Die Gelenkstabilität ist umso größer, je besser das Glenoid den Humeruskopf umfasst.

Tab. 1: Manschettenmuskulatur beim Mensch und Schaf

Muskel	Mensch ¹⁵			Schaf ¹²		
	Ursprung	Ansatz	Funktion im Schultergelenk	Ursprung	Ansatz	Funktion im Schultergelenk
<i>M. supraspinatus</i>	Fossa supraspinata scapulae, Fascia supraspinata	Tuberculum majus humeri (oberer Anteil)	Abduktor, Unterstützung der Pro-/Supination	Fossa supraspinata scapulae	Tuberculum majus und minus humeri	Fixator, Extensor
<i>M. infraspinatus</i>	Fossa infraspinata scapulae, Fascia supraspinata	Tuberculum majus humeri (mittlerer Anteil)	Supinator, Unterstützung der Ab-/Adduktion	Fossa infraspinata scapulae	Tuberculum majus humeri	Flexor, Abduktor, Supinator, laterales kontraktiles Spannband
<i>M. teres minor</i>	Margo lateralis scapulae, Fossa infraspinata	Tuberculum majus humeri (unterer Anteil)	Supinator, Adduktor	Margo caudalis scapulae	Tuberositas teres minor	Flexor
<i>M. subscapularis</i>	Fossa subscapularis	Tuberculum minus humeri	Pronator, Unterstützung der Ab-/Adduktion	Fossa subscapularis	Tuberculum minus humeri	Flexor, Extensor, mediales kontraktiles Spannband
<i>M. biceps brachii</i>	Processus coracoideus, Tuberculum supraglenoidale scapulae	Tuberositas radii	Flexor, Unterstützung der Ab-/Adduktion Anteversion und Pronation	Tuberculum supraglenoidale scapulae, Gelenkkapsel	Proximale Anteile von Rdius und Ulna	Fixator

Durch die Einwirkung der Kompressionskräfte (Gelenkkapsel und Manschettenmuskulatur) wird der Humeruskopf fest in die *Fossa glenoidalis* gedrückt und das Gelenk dadurch zusätzlich unterstützt⁵. Der zweite Mechanismus der Schulterstabilität basiert auf der Aufrechterhaltung der scapulohumeralen Balance. Die scapulohumerale Balance bezeichnet den Zustand in dem der Humeruskopf so in der *Fossa glenoidalis* positioniert ist, dass die darauf einwirkenden Kräfte durch die Mitte des Humeruskopfes geleitet werden und auf die Glenoidoberfläche treffen. In einer gesunden Schulter wird dieser Zustand durch eine dynamische Wirkung der Manschetten- und Schultergürtelmuskulatur aufrechterhalten^{5,16}.

Die Veränderungen der Glenoidmorphologie (Abflachung) durch Knorpelverschleiß, Abriss der Seitenbänder oder Labrumdefekte sowie die Veränderungen der Kompressionskräfte durch beispielsweise Kapsel- oder Muskulaturrisse führen zur Reduktion der Konkavitätskompression und Stabilitätsverlust im Gelenk. Außerdem können die Muskelverletzungen zur Beeinträchtigung der glenohumeralen Balance führen, und dadurch ebenso den Verlust der Gelenkstabilität hervorrufen. In einer Untersuchung an caninen Kadavern konnte gezeigt werden, dass eine Durchtrennung der Gelenkkapsel und der glenohumeralen Bänder eine deutlich stärkere Beeinträchtigung der statischen Stabilität im Schultergelenk bewirkt als eine Durchtrennung der Manschettenmuskulatur. Zu einer Gelenkluxation kommt es nur dann, wenn sowohl die Manschettenmuskulatur als auch die Kapsel und die Bänder des Gelenkes durchtrennt sind⁷.

2.2. Knorpelaufbau des gesunden Schultergelenkes

2.2.1. Biochemische Zusammensetzung

Die beiden Gelenkoberflächen der Schulter, Humeruskopf und Glenoid, sind mit hyalinem Knorpel ausgekleidet. Makroskopisch sind sie glatt, glänzend, durchsichtig und haben eine bläulich-weißliche Farbe. Das hyaline Knorpelgewebe setzt sich aus Knorpelzellen, Chondrozyten, und extrazellulärer Matrix (EM) zusammen. Die Chondrozyten machen 1-12% des Knorpelvolumens aus. Ihre wichtigste Funktion ist die Synthese und das Aufrechterhalten der extrazellulären Matrix. Die Bestandteile

der extrazellulären Matrix können in drei grosse Gruppen eingeteilt werden: Kollagene, Proteoglykane und Wasser. Der Knorpel eines jungen Tieres enthält etwa 80% Wasser. Bei einem adulten Tier sinkt der Wassergehalt auf 70%. Die Trockenmasse des Knorpels ist aus Kollagenen (50%), Proteoglykanen (35%), Glykoproteinen (10%), Mineralien (3%), Lipiden (1%) und sonstigen Substanzen (1%) zusammen gesetzt¹⁷.

Die Kollagenfasern im Knorpel gewährleisten die Widerstandsfähigkeit gegenüber den Scher- und Zugkräften. Bei verschiedenen Säugerspezies wurden mindestens 16 Kollagentypen beschrieben. Dabei macht das Typ-II-Kollagen etwa 90-95% des Kollagengehaltes im adulten Knorpel aus¹⁸. Es ist ein Trimer, der aus drei gleichen umeinander gewundenen α -Ketten zusammen gebaut ist. Die Chondrozyten stellen zuerst das Prokollagenmolekül mit carboxyl (C)- und amino (N)-terminalen Propeptiden her¹⁹. Erst nach dem enzymatischen Abspalten der nichthelikalen Propeptide außerhalb der Zellen erreicht das Kollagenmolekül seine finale Struktur. Einzelne Kollagenmoleküle lagern sich zu Fibrillen zusammen. Meistens sind in den Fibrillen auch andere Kollagene eingebaut, die wegen ihres geringeren Anteils als Minor-Kollagene bezeichnet werden. Sie erfüllen verschiedene Funktionen. So liegen beispielsweise Typ-XI-Kollagenfasern in der Mitte der Typ-II-Helices und dienen als Kernfasern an die sich die Typ-II-Fasern während der Bildung der Fibrillen anlegen. Die Kollagenmoleküle vom Typ VI, IX, XII und XIV unterstützen die Bindungen zwischen den Fibrillen und anderen Matrixkomponenten und sorgen für die mechanische Stabilität des fibrillären Netzwerkes^{19,20}.

Der zweitgrösste Bestandteil der extrazellulären Matrix sind Proteoglykane. Zu etwa 85% ist es das Molekül Aggrecan. Es ist ein Monomer, das aus einem Kernprotein und kovalent daran gebundenen Glykosaminoglykanen (Chondroitin-4-Sulfat, Chondroitin-6-Sulfat und Keratin-Sulfat) besteht²¹. Die nah aneinander liegenden Glykosaminoglykane sorgen für negative Ladung und ziehen somit die Wassermoleküle an. Der dadurch aufgebaute positive Quelldruck verleiht dem Knorpel Widerstandsfähigkeit gegenüber den Druckkräften²². Zusammen mit Hyaluronsäure bilden Aggrecan-Monomere grosse Aggregate, in denen bis zu 200 Aggrecane über die Brückenproteine nicht-kovalent mit Hyaluronsäure-Molekül verbunden werden. Ausser Aggrecan sind auch andere kleine Proteoglykane im Knorpel enthalten. Dazu gehören beispielsweise Biglykan, Decorin und Fibromodulin.

Sie interagieren mit Kollagen und sind an verschiedenen metabolischen Vorgängen im Knorpel beteiligt²¹.

2.2.2. Schichtenaufbau

Die Knorpelschicht wird mikroskopisch in vier Zonen unterteilt (siehe Abb. 1):

- Tangentialzone
- Übergangszone
- Radiärzone
- Zone des kalzifizierten Knorpels

Die oberflächliche Tangentialzone hat die höchste Chondrozytendichte. Die Zellen sind abgeflacht, diskförmig und parallel zur Knorpeloberfläche angeordnet. Die Kollagenfasern in dieser Schicht haben einen kleineren Diameter, eine höhere Dichte und liegen ebenso parallel zur Oberfläche. In der Übergangszone sind die Chondrozyten größer und haben eher eine runde oder ovale Form. Die Kollagenfasern sind dicker und liegen ungeordnet verzweigt. Die Radiärzone besitzt die größten Chondrozyten. Sie sind polygonal und senkrecht zur Oberfläche geordnet. Die Kollagenfasern in dieser Schicht haben den größten Diameter und sind ebenso wie die Zellen senkrecht angeordnet. Sie setzen sich in der darunterliegenden kalzifizierten Zone fort und bilden den Übergang zum mineralisierten Knorpel. Die kalzifizierte Zone liegt direkt dem subchondralen Knochen an und besteht aus mineralisierten Zellen und Matrix. Der Übergang zwischen dem mineralisierten und dem nicht mineralisierten Knorpel wird als Tidemark bezeichnet.

2.3. Osteoarthritis

Die Osteoarthritis ist eine Erkrankung beweglicher Gelenke, die durch Degeneration und Verlust des Knorpels gekennzeichnet ist. Im gleichen Zusammenhang werden in der Literatur auch andere Begriffe (Osteoarthrose, Arthropathia deformans, Arthrosis deformans) verwendet.

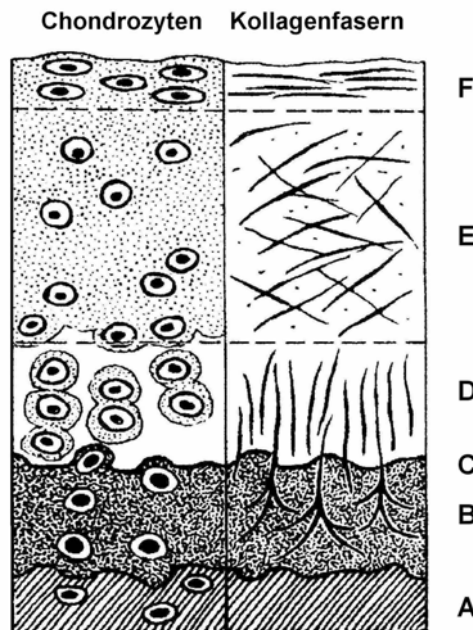


Abb. 1: Aufbau gesunder Knorpelschicht mit Morphologie von Chondrozyten und Kollagenfibrillen (modifiziert aus March L: in Sambrook P, Editor: The Musculoskeletal System, New York, 2001, Churchill Livingstone). Beschriftung: A: subchondraler Knochen, B: kalzifizierter Knorpel, C: Tidemark, D: Radiärzone, E: Übergangszone, F: Tangentialzone

OA ist das Ergebnis mechanischer und biologischer Ereignisse, welche die Balance zwischen dem Auf- und Abbau von Chondrozyten, extrazellulärer Matrix und subchondralen Knochen zerstören. Bei der Entstehung und Entwicklung der Erkrankung können viele Faktoren eine Rolle spielen: genetische Prädispositionen, Wachstums- und Entwicklungsstörungen, Stoffwechselprobleme, übermäßige Belastung oder auch Traumata. Die Veränderungen manifestieren sich auf den morphologischen, biochemischen, molekularen und biomechanischen Ebenen. Unabhängig von dem Krankheitsauslöser und der betroffenen Spezies verläuft die Entwicklung einer Arthritis nach einem ähnlichen Muster²³. Schon bevor makro- und mikroskopische Knorpelveränderungen sichtbar werden, spielen sich viele pathologische Prozesse auf einer molekular-biochemischen Ebene ab. Beispielsweise stellen durch eine Knorpelverletzung stimulierte Chondrozyten vermehrt Typ-II-Prokollagen, Aggrecan sowie kleine Proteoglykane (Decorin, Biglycan, Fibromodulin) her^{24,25}. Zur gleichen Zeit werden die Synthese und die Aktivierung von Matrix-Metalloproteinasen (MMP) durch die Wirkung von Interleukinen(IL)-1 α und -1 β , Tumornekrosefaktor(TNF)- α , Phospholipase A₂ und Sauerstoffradikalen angeregt²⁶. Diese Enzyme sind für den irreversiblen Abbau der EM verantwortlich. Durch Kollagenasen (MMP-1, MMP-8, MMP-13) werden Typ-II-Kollagen-Moleküle gespalten. Die Stromelysine (MMP-3, MMP-10) und Gelatinasen

(MMP-2, MMP-9) zerstören überwiegend Glykosaminoglykane, können aber auch Kollagen- und Elastinmoleküle angreifen²¹. Der Abbau von Aggrecan im erkrankten Knorpel wird vor allem durch spezifische Enzyme der Familie ADAM (A Desintegrin And Metalloproteinase) verursacht²⁷. Die Chondrozyten versuchen anfangs die Abbauprozesse mit verstärkter Synthese von Kollagen zu kompensieren, sie proliferieren und legen sich zu Clustern (mehr als 2 Chondrozyten) zusammen²⁴. Dies geschieht aufgrund der gesteigerten mitotischen Aktivität der Zellen, wobei auch die Migrationsfähigkeit der Chondrozyten in die geschädigten Areale nicht ausgeschlossen wird. Jedoch werden sie durch die Einwirkung von IL-1 und TNF- α in ihrer Funktion immer mehr gehemmt, sodass die katabolen Vorgänge überwiegen. Beginnend in den oberen Schichten setzt sich der Prozess in der Tiefe fort. Zugleich wird durch IL-1 und TNF- α die Freisetzung von wichtigen lokalen Entzündungsmediatoren, NO-Radikalen (Stickstoffmonoxid) und PGE₂ (Prostaglandin E₂) stimuliert. Die NO-Radikale aktivieren durch ihr Redox-Potential weitere Enzyme (Kinasen, Proteinasen) und begünstigen die Degradierung von Kollagen und Hyaluronsäure. Aus Arachidonsäure wird unter der Wirkung von Cyclooxygenase 2 (COX2) PGE₂ gebildet und das Entzündungsgeschehen dadurch weiterhin verschlimmert.

Mit dem Zerfall seiner wichtigsten Bestandteile, den Kollagenen und Proteoglykanen, verliert der Knorpel seine Widerstandsfähigkeit gegenüber den Druck-, Zug- und Scherkräften, quillt auf und wird brüchig. Makroskopisch verändert sich die Gelenkoberfläche von glatt und glänzend zu samtartig und matt. In Bereichen besonderer Belastung entstehen vertikale Risse, die in schweren Fällen bis in die kalzifizierte Zone reichen können. Manchmal sind sie auch mit horizontalen Spalten vergesellschaftet. Die Veränderungen betreffen ebenfalls die Tidemark-Linie. Sie wird deutlich breiter und zeigt unregelmäßige Einziehungen von kalzifiziertem Knorpel in die basale Schicht. Oft werden solche Bezirke im Anfangsstadium unterhalb der Zonen mit Fibrillation gefunden. Die Proliferation von subchondralem Knochen in diesen Bereichen führt zur Remodellierung der Knochen-Knorpel-Kontaktfläche durch das Einwachsen von Blutgefäßen in den Knorpel²⁸. Enchondrale und desmale Ossifikation von fibrovaskulärem Gewebe führt zu einer Knorpelausdünnung und einem Knorpelverlust, wodurch die Scherkräfte zusätzlich verstärkt werden²⁹. Die Folge ist die Bildung einer sogenannten Knorpelglatze. Sie ist

durch das Verschwinden des Knorpels, Freiliegen der Knochenschicht an der Oberfläche sowie durch eine Sklerosierung der subchondralen Spongiosa gekennzeichnet. An diesen Stellen können auch kleine Bereiche einer sekundären Osteonekrose mit leeren Lakunen, ohne lebensfähigen Osteozyten gefunden werden. Ein weiterer Faktor, der das Fortschreiten einer OA begünstigt, ist die Bildung von Mikrofrakturen in den subchondralen Knochentrabekula. Sie begünstigen ebenso die Vaskularisierung des Knorpels und die Bildung von intraossären Pseudozysten und Osteophyten. Die Entwicklung einer OA beschränkt sich nicht nur auf den Knorpel. Auch andere Gelenkstrukturen wie Gelenkkapsel, Synovia, subchondraler Knochen, Sehnen und Bänder werden in den Krankheitsprozess einbezogen. Klinisch zeigt sich eine OA mit Gelenksschmerzen, Spannungsgefühl, Bewegungseinschränkungen, Krepitationen und Gelenksergüssen²¹.

2.4. Mikroskopische Beurteilung des Knorpelgewebes

Durch entzündliche Prozesse entstandene morphologische Veränderungen im Knorpel und Knochen können makroskopisch und mikroskopisch beurteilt werden. Für eine mikroskopische Beurteilung werden aus dem Probengewebe Dick- und Dünnschnitte hergestellt und mithilfe verschiedener histochemischer Verfahren gefärbt. So können nicht nur einzelne Strukturen wie Zellen und Zellschichten des Knorpels und des darunterliegenden Knochens, sondern auch deren chemische Bestandteile (Proteoglykane, Glykosaminoglykane, Kollagene, unmineralisierte und mineralisierte Knochensubstanz) besonders gut visualisiert werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurden 2 Färbemethoden verwendet: Toluidinblau-O-Färbung und van-Kossa/McNeal-Tetrachrom-Färbung.

In der **Toluidinblau-O-Färbung** bindet der basophile metachromatische Farbstoff selektiv an die polyanionischen Chondroitinsulfate. Die Intensität der Färbung korreliert mit dem Gehalt der in der Knorpelmatrix vorhandenen Proteoglykane³⁰. Im erkrankten Knorpel kommt es zum Verlust von Proteoglykanen (siehe Kap. 2.3). Er beginnt in den oberen Schichten und setzt sich in der Tiefe des Knorpels fort³¹. Gleichzeitig werden die Chondrozyten stimuliert neue Proteoglykane zu bilden. Diese

neu gebildeten Proteoglykane sind länger als im gesunden Knorpel, verfügen aber über eine geringere Anzahl an Glycosaminoglykanen. Daraus resultiert eine reduzierte Bindungskapazität für den Farbstoff³², die sich mikroskopisch als eine Entfärbung der Knorpelschicht darstellt. Dieses Phänomen wird bei der Beurteilung einer OA berücksichtigt.

In der **van-Kossa-Färbung** wird die mineralisierte Knochensubstanz durch Silbernitrat dunkelgrau bis schwarz gefärbt. Das unmineralisierte Osteoid (durch Osteoblasten gebildete, nicht mineralisierte Knochensubstanz, aus Kollagenfibrillen und Proteoglykanen bestehend) wird gleichzeitig in der **McNeal-Tetrachrom-Gegenfärbung** als türkisfarbene hyaline Auskleidung zwischen den Knochenlamellen sichtbar. Die OA bewirkt eine Stoffwechselsteigerung des subchondralen Knochens, die mikroskopisch durch eine vermehrte Osteoid-Bildung und Verbreiterung und Verdichtung der subchondralen Knochenplatte sichtbar wird^{33,34}.

Für eine semiquantitative Beurteilung der Knorpelveränderungen wurde im Jahre 1970 ein „histologisch-histochemisches Gradierungssystem“ entwickelt³⁵. Er wurde nach seinem Entwickler als Mankin Gradierungssystem (*engl. „Mankin Score“*) benannt. Bis heute wird dieses System für die Beurteilung einer OA eingesetzt und gilt als zuverlässig³⁶. In diesem System werden vier morphologische Merkmale (Knorpeloberfläche, Chondrozytenmorphologie, Färbeintensität des Schnittes und Integrität der Tidemarklinie) mit einem Grad beurteilt. Im Weiteren wird der Grad als Mankin-Grad (MG) bezeichnet. Der kleinste MG (0) bedeutet keine Veränderungen im Vergleich zum gesunden Knorpel, der höchste MG (6) symbolisiert die stärkste Abweichung. Am Schluss der Beurteilung werden einzeln vergebene Grade addiert und bilden eine Mankin Score (MS). Der gesunde Knorpel hat die kleinste, ein stark zerstörter Knorpel die höchste Score (0-14). Die genaue Beschreibung des Gradierungssystems befindet sich im Kapitel 3.8 „Material und Methoden“. In den Abb. 2-7 sind Beispiele der Knorpelveränderungen dargestellt.

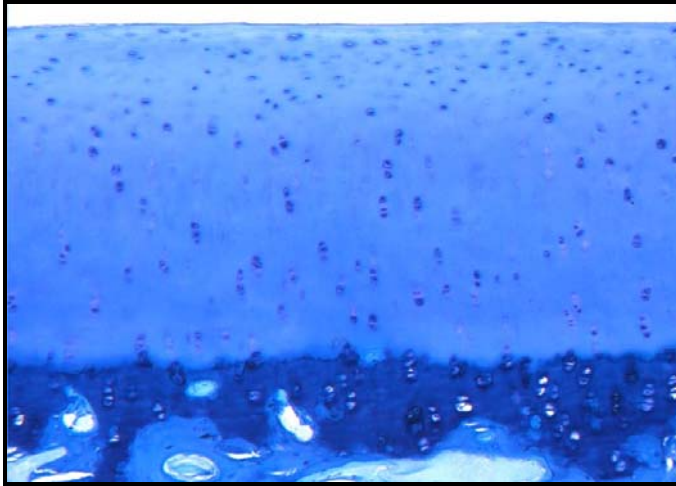


Abb. 2: gesunder Knorpel

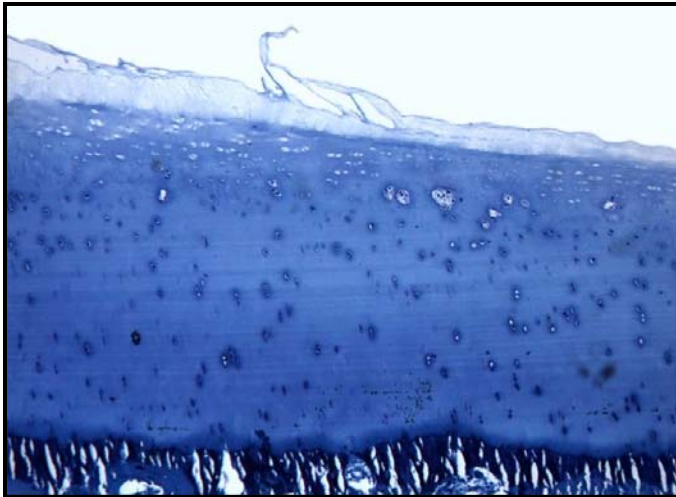


Abb. 3: Pannusbildung

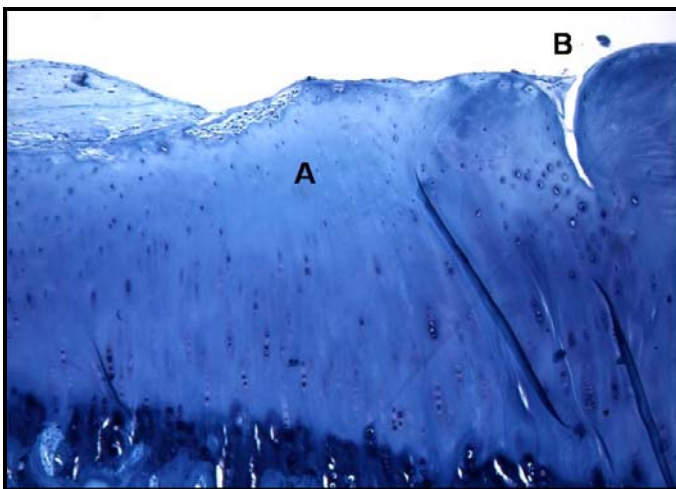


Abb. 4: Knorpelveränderungen:
Hypozellularität (A) und Riss bis
in die Übergangszone (B)

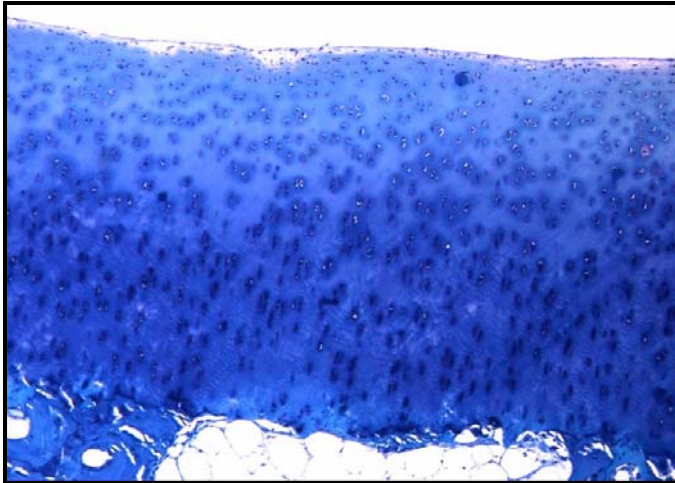


Abb. 5: Hyperzellularität

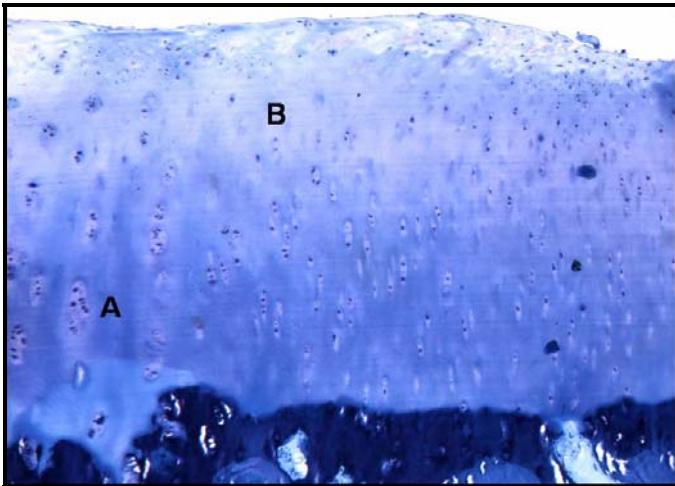


Abb. 6: Knorpelveränderungen mit Bildung von Clusters (A) und Farbverlust (B)

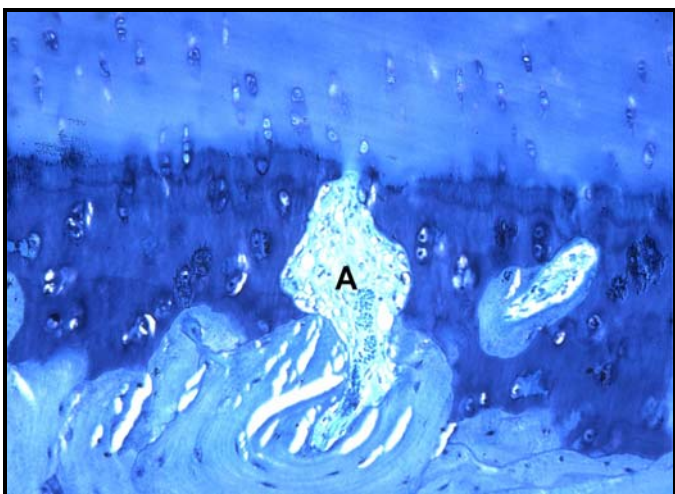


Abb. 7: Tidemark vom Blutgefäß (A) durchbrochen

2.5. Ruptur der Manschettenmuskulatur und Entwicklung einer Omarthrititis

Die Entwicklung einer OA in einem instabilen Schultergelenk (Omarthrititis) wurde sowohl in der Humanmedizin als auch in der Tiermedizin beobachtet. Meistens entsteht die Instabilität als Folge einer Verletzung oder dauerhafter Überbeanspruchung des Gelenkes, wie beispielsweise beim Leistungssport (Tennis oder Rugby bei Menschen oder Agility bei Hunden). Wie in dem Kapitel 2.1 bereits beschrieben, beteiligt sich die Manschettenmuskulatur an der Aufrechterhaltung der Schulterstabilität indem sie die Kompressionskräfte ausübt und die scapulohumerale Balance aufrechterhält. In den retrospektiven humanmedizinischen Studien an Kadavern konnte mehrmals gezeigt werden, dass eine vollständige oder partielle Manschettenruptur mit Entwicklung einer AO im Schultergelenk vergesellschaftet ist^{4,37,38}. Die vergleichenden Untersuchungen zeigten außerdem, dass die entzündlichen Knorpelveränderungen in den Gelenken nach Manschettenruptur signifikant häufiger vorkommen, als in den Gelenken mit intakter Muskulatur^{3,38}. Das Ausmaß der Instabilität hängt mit der Rupturgrösse und der Rupturstelle zusammen³⁷. Die Instabilitätsrichtung des Gelenkes hat aber keine signifikante Auswirkung auf das Vorhandensein und den Schweregrad der OA. Im Gegensatz dazu ist der Schweregrad signifikant mit dem Alter des betroffenen Individuums und der Dauer der Gelenkinstabilität assoziiert². In einer Studie wurde die Osteophytenbildung am Glenoid als häufige Veränderung nach Manschettenruptur untersucht. Am vorderen und inneren Teil des Glenoids konnten eckige und hackenförmige Fragmente beobachtet werden. Bei einer vollständigen Manschettenruptur waren in 43% der Fälle die hackenförmigen Fragmente zu finden, die signifikant grösser waren, als bei unvollständiger Ruptur³⁹.

In der Veterinärmedizin wurden die Erkrankungen von *M. biceps brachii*^{10,40-43}, *M. supraspinatus*⁴¹, *M. infraspinatus*⁴¹, *M. teres minor*⁴¹ und *M. subscapularis*^{10,41} beschrieben. In manchen Berichten wurden auch die osteoarthritischen Knorpelveränderungen betroffener Schultergelenke angesprochen^{10,40}. Nach dem Wissensstand der Autorin gibt es keine Berichte, die bei Tieren eine OA-Entwicklung nach Ruptur oder Erkrankung der Manschettenmuskulatur beschreiben.

2.6. Schaf als Tiermodell für Osteoarthritis

Das Schaf ist ein gängiges Tiermodell für verschiedene Untersuchungen im Bereich der Orthopädie, unter anderem auch in der Forschung über die Osteoarthritis. Die Tiere sind angenehm im Umgang, einfach in der Haltung und genügsam in der Versorgung, was eine kostengünstige Haltung ermöglicht⁴⁴. Aus ethischen Gründen wird häufig auf die Verwendung von Hunden und Katzen für Forschungszwecke verzichtet. Im Gegensatz dazu werden die Schafe als Versuchstiere in der Gesellschaft besser akzeptiert, da sie einerseits als Nutztiere gelten und andererseits auch artgerecht gehalten werden können. Ihre Knochengröße sowie das Gewicht sind mit dem Menschen gut vergleichbar. Als Tiermodell wurde das Schaf bereits erfolgreich für Forschung über die Pathogenese und Therapie von Osteoarthritis in den Hüft-, Knie- und Karpalgelenken eingesetzt⁴⁵⁻⁴⁹. Die experimentellen Studien zur Erkrankung im Schulterbereich (Rotatorenmanschette, Gelenkkapsel) und deren Therapieansätze, wurden ebenso bereits an den Schafen durchgeführt⁵⁰⁻⁵³. Die einseitigen chirurgischen Eingriffe an der Schulter wurden von den Tieren gut toleriert⁴⁴. Anatomisch besteht die Ähnlichkeit zwischen dem *M. infraspinatus* beim Schaf und dem *M. supraspinatus* beim Menschen⁵⁴. Die zu beachtenden Unterschiede zum menschlichen Schultergelenk sind eine permanente Belastung der Vordergliedmaßen, das Fehlen von Clavicula und coracoakromialen Bogen. Das Akromion ist beim Schaf weniger entwickelt als beim Menschen⁴⁴. Nach Wissen der Autorin liegen derzeit keine Berichte über die Untersuchungen der Knorpelveränderungen im Schultergelenk beim Schaf vor.

3. Material und Methoden

3.1. Aufbau der Studie

Die experimentelle Studie wurde an elf Schafen durchgeführt, die gleichzeitig für ein anderes Projekt zur Untersuchung von fettiger Muskeldegeneration und Retraktion bei chronischer Sehnenruptur zur Verfügung standen⁵⁰. Bei allen Tieren wurde eine operative Tenotomie des *Musculus infraspinatus* der rechten Schulter durchgeführt. Die linke gesunde Schulter diente als Kontrolle. Nach 16 Wochen wurde jedem Tier ein spezielles Dehngerät (Spanner) implantiert und der durchtrennte Muskel wurde über den Zeitraum von 6 Wochen täglich um 1 mm gedehnt. Anschließend erfolgte bei sieben Tieren eine operative Refixation der Sehne. Vier Tiere mussten wegen entstandener Komplikationen (Nekrose der Sehne) nach der Implantation des Dehngerätes vor diesem Zeitpunkt euthanasiert werden. Zwölf Wochen nach erfolgter Refixation wurden alle sieben Schafe euthanasiert und untersucht (siehe auch Tab. 2).

Tab. 2: Versuchsaufbau

Zeitpunkt	Eingriff
Versuchsbeginn	Tenotomie des <i>M. infraspinatus</i> der rechten Schulter
12. Woche	Implantation des Dehnapparates
22. Woche	Refixation des <i>M. infraspinatus</i>
34. Woche	Euthanasie und Probenentnahme

3.2. Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden elf weiße Alpenschafe (sechs weibliche und fünf männliche) eingesetzt. Das geschätzte Alter der Tiere lag zu Beginn der Studie bei 15 Monaten. Im Durchschnitt waren die Tiere 42,08 kg schwer. Das Gewicht variierte von 37 kg bis 49 kg. Vor der Aufnahme in die Studie wurde jedes Tier klinisch untersucht, mit einer bestandseigenen Ohrmarke gekennzeichnet (siehe Tab. 3) und

gegen Tetanus und Breinierenerkrankung geimpft (Pulpyvax®-T, Essex Tierarznei, Vertrieb Veterinaria AG, Bern, Schweiz). Zusätzlich erhielten alle Schafe als Antiparasitika: Ivermectin (Ivomec®, Merial, Derendingen, Schweiz) und Triclabendazol/Levamisol (Endex® 19,5 %, Novartis AG, Bale, Schweiz) subkutan sowie Netobimin (Hepadex® 15%, Essex Tierarznei, Vertrieb Veterinaria AG, Bern, Schweiz) peroral. Alle eingesetzten Schafe wurden serologisch negativ auf die Infektion mit Maedi-Visna-Virus getestet.

In der Zeit vor und nach der ersten Operation wurden die Tiere in Gruppen zu 7 bis 10 Schafen in einem Offenstall mit Weidegang gehalten. Die Zeit unmittelbar vor und nach dem ersten Eingriff genauso wie die Zeit nach der zweiten und nach der dritten Operation verbrachten die Schafe in den Stallungen des Tierspitals Zürich. Heu und Wasser standen den Tieren ad libitum zur Verfügung. Alle sechs Wochen wurde bei Schafen ein allgemeiner Gesundheitscheck und Klauenpflege durchgeführt.

Tab. 3: Angaben zu Versuchstieren

Tiernummer	Alter (Monate)	Gewicht (kg)	Geschlecht
2201	15	46	weiblich
2202	15	41	weiblich
2203	15	37	weiblich
2204	14	45	weiblich
2205	14	45	weiblich
2206	14	42	weiblich
2208	17	44	männlich kastriert
2209	16	47	männlich kastriert
2210	16	45	männlich kastriert
2211	17	47	männlich kastriert
2212	17	49	männlich kastriert

3.3. Vorbereiten der Operationen

Etwa ein bis zwei Tage vor der Operation wurden die Tiere gewogen und an der linken Halsseite und der rechten Schulter großflächig geschoren. Etwa 24 Stunden vor dem geplanten Eingriff wurde den Tieren die Nahrung entzogen. Das Wasser stand weiter zur freien Verfügung. Am Tag der Operation wurde jedes Schaf vom zuständigen Anästhesieteam auf die Narkosefähigkeit überprüft. Nur klinisch gesunde und narkosefähige Tiere wurden operiert.

Die Prämedikation erfolgte intramuskulär mit 0,005 mg/kg Medetomidin (Domitor[®], Pfizer, Dr. E. Gräub AG, Bern, Schweiz) und 0,01 mg/kg Buprenorphin (Temgesic[®], Essex Chemie AG, Luzern, Schweiz). Eine halbe Stunde später wurden die Tiere in den Operationsraum geführt. In die linke Vena jugularis wurde ein Venenverweilkatheter (Vygonüle S[®] G14, Vygon GmbH, Aachen, Deutschland) gesetzt. Präoperativ bekam jedes Schaf intravenös 30000 IU/kg Penicillinum natrium (Penicillin Natrim Vet[®], G. Streuli & Co SA, Uznach, Schweiz), 6 mg/kg Gentamycin (Gentamycin[®], G. Streuli & Co SA, Uznach, Schweiz) und 4 mg/kg Carprofen (Rimadyl[®], Pfizer, Dr. E. Gräub AG, Bern, Schweiz).

Die Narkose wurde intravenös mit 2 mg/kg Ketamin (Narketan 10[®], Vetoquinol AG, Belp-Bern, Schweiz) und 0,1 mg/kg Diazepam (Valium[®], Roche Pharma AG, Reinach, Schweiz) eingeleitet. Nach Bedarf wurde zur Intubation 2-4 mg/kg Propofol (Propofol 1 % Frisenius[®], Frisenius Kabi AG, Stans, Schweiz) verwendet. Für die Intubation wurde der Kehlkopfbereich lokal mit Lidocain (Xylocain[®] Spray, Astra Pharmaceutica AG, Dietikon, Schweiz) betäubt. Die Erhaltung der Narkose erfolgte mit einem Gasmisch aus Isofluran (Forene[®], Abbott AG, Baar, Schweiz), Sauerstoff und Luft. Die Dosierung wurde entsprechend dem Gewicht und Allgemeinzustand des Tieres und dem Operationsverlauf angepasst. Die Augen wurden gegen die Hornhautaustrocknung mit einer Vitamin A Augensalbe (Dispera[®], Novartis AG, Bale, Schweiz) geschützt. Das Tier wurde in linker Seitenlage auf dem Tisch fixiert. Das Operationsfeld im Bereich der rechten Schulter wurde routinemäßig gewaschen, desinfiziert und steril abgedeckt.

3.4. Durchführung der Operationen

Die Operationstechniken und das Instrumentarium wurden bereits in den anderen Manuskripten beschrieben^{50,55,56}. Aus diesem Grund wird in dieser Arbeit nicht detailliert darauf eingegangen.

3.4.1. Abtrennen der Sehne des *M. infraspinatus*

Es wurde ein lateraler Zugang zum rechten Schultergelenk gemacht. Die Sehne des *M. infraspinatus* wurde abpräpariert und durch Heraussägen eines V-förmigen Knochenstückes aus dem *Tuberculum majus humeri* gelöst. Über das gelöste Sehnenende wurde ein 12 mm breiter Silikonschlauch (Silicone Penrose Drain, Fortune Medical Instrument, Taipei, Taiwan) gelegt um die vorzeitige Spontanheilung der Sehne vorzubeugen. Die Wunde wurde dreischichtig verschlossen.

3.4.2. Fixation des Spanners

Der Hautschnitt erfolgte transversal über dem *Tuberculum majus* und der *Spinae scapulae* in Richtung Rückenlinie. Die Sehne des *M. infraspinatus* wurde frei präpariert und mobilisiert. Der Silikonschlauch wurde entfernt. Der Spanner wurde unter der Haut platziert und an der *Spina scapulae* fixiert (siehe Abb. 8-10)¹. Der Draht wurde dabei durch die Perforation der Haut etwa 20 cm oberhalb der Fixationsstelle nach außen geführt und mit einer Drehkappe versehen. Das Ende der Sehne wurde erneut mit einem Silikonschlauch versehen und an der Öse des Spanners befestigt. Die Sehne wurde unter Spannung gebracht und die Wunde dreischichtig verschlossen. Der Apparat wurde mit einer Stoffhülle vor mechanischen Einwirkungen und Verschmutzungen geschützt und täglich bei Spannungsänderungen an der Sehne gereinigt und desinfiziert.

¹ Bilder modifiziert aus R. Fichter, Experimentelle, schrittweise Reversion von fettiger Muskeldegeneration und Retraktion bei chronischer experimenteller Sehneruptur beim Schaf, Zürich 2007

3.4.3. Refixation des *M. infraspinatus*

Der Hautschnitt erfolgte wie unter 3.4.2 beschrieben. Die Sehne des *M. infraspinatus* wurde frei präpariert und vom Spanner getrennt. Anschliessend wurde der Spanner auch von dem Schulterblatt gelöst. Der Sehnenansatz wurde mit einer transossären Schraube an der ursprünglichen Stelle am Humerus fixiert. Die Wunde wurde dreischichtig verschlossen.

3.5. Postoperative Versorgung

Während der Aufwachphase waren alle Schafe unter ständiger Kontrolle. Nach vollständigem Erwachen wurden sie in die Boxen gebracht und bekamen Futter und Wasser zur freien Verfügung. Zur Analgesie bekamen Tiere innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Operation intravenös 0,01 mg/kg Buprenorphin im Abstand von 4 bis 6 Stunden. Des Weiteren erhielten sie über vier Tage einmal täglich 4 mg/kg Carprofen und 6 mg/kg Gentamycin und zweimal täglich 30000 IU/kg Penicillinum natrium intravenös.

Nach dem ersten Eingriff wurden die Tiere zu zweit bzw. zu dritt über zwei bis drei Wochen in den Boxen auf Stroh gehalten. Anschließend kamen sie in den Offenstall. Das Allgemeinbefinden sowie der Zustand der Operationswunden wurden zweimal täglich kontrolliert. Die Zeit nach der Refixation des Sehnenansatzes verbrachten die Tiere ausschließlich in den Boxen. In den ersten 6 Wochen wurden sie in den Netzen gehalten um das Ausreißen der heilenden Sehne durch das Hinlegen und Aufstehen zu vermeiden. Die Belastung der operierten Gliedmaße wurde durch einen Stützverband und eine unter die Klaue geklebte Halbkugel aus Holz minimiert. In den letzten 6 Wochen konnten sich die Tiere zu zweit oder zu dritt in den Boxen frei bewegen.



Abb. 8: Aufbau des Spanners (A, Fixationsende für die Sehne des *M. infraspinatus*; B, proximales Ende mit Drehkappe)

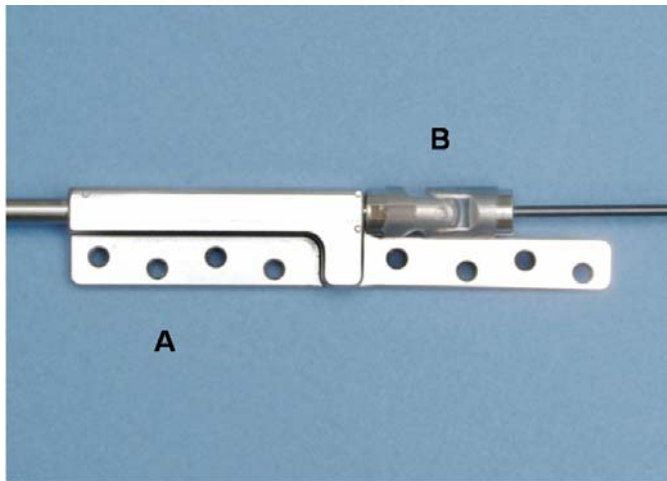


Abb. 9: Aufbau des Spanners (A, Fixationsplatte; B, Kardalgelenk)

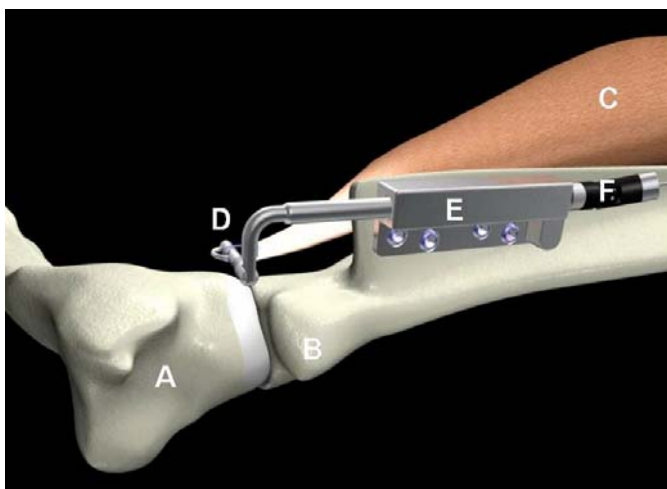


Abb. 10: Fixation des Spanners an der *Spina scapulae* (A, Humerus; B, Scapula; C, *M. infraspinatus*; D, Fixationsstelle des Dehnapparates an der Sehne; E, Fixationsplatte an der *Spina scapulae*; F, Kardalgelenk)



Abb. 11: Schultergelenk, laterale Ansicht, Ebene der Probeentnahme mit Punktierlinie gezeichnet

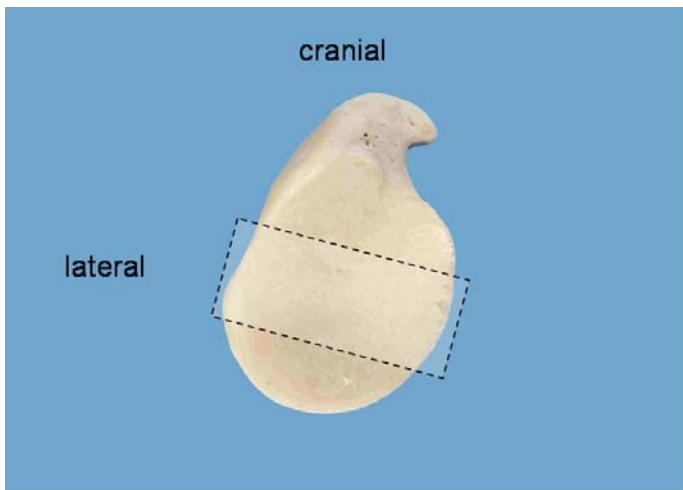


Abb. 12: Gelenkoberfläche von Glenoid, Bereich der Probeentnahme mit gestrichelten Linie gekennzeichnet

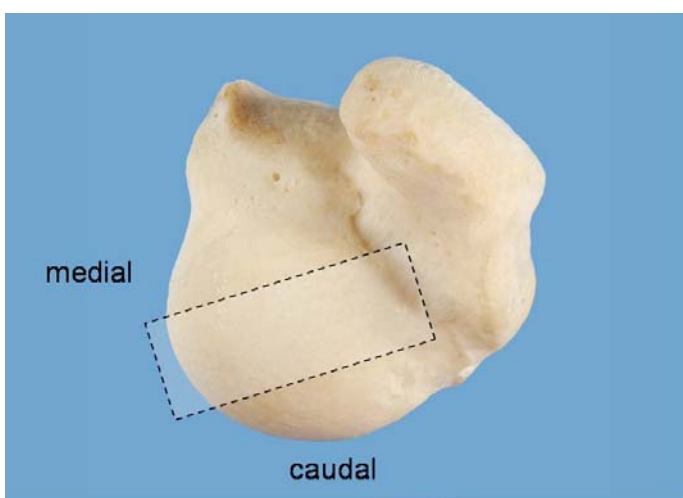


Abb. 13: Gelenkoberfläche von Humerus, Bereich der Probeentnahme mit gestrichelten Linie gekennzeichnet

3.6. Euthanasie der Versuchstiere und Probenentnahme

Die Sedation der Tiere erfolgte intramuskulär mit 0,005 mg/kg Medetomidin und 0,01 mg/kg Buprenorphin. Etwa 30 Minuten später wurden die Schafe durch das intravenöse Verabreichen von 50 mg/kg Pentobarbital (Vetnarcol® ad us. vet.) eingeschläfert. Bei jedem Schaf wurden beide Schultergelenke entnommen, von Muskel- und Sehngewebe frei präpariert, in 4%ige gepufferte Formalin-Lösung gelegt und über ca. 2 Monate bei Raumtemperatur stehen gelassen. Das linke Schultergelenk diente jeweils als Kontrolle. Für die Anfertigung histologischer Präparate wurden aus jedem Glenoid und Humeruskopf ca. 1 cm breite Stücke (Knorpel mit darunterliegendem Knochengewebe) in Verlaufsrichtung des *M. infraspinatus* herausgesägt und bis zur weiteren Verarbeitung in der Formalin-Lösung belassen (siehe Abb. 11-13).

3.7. Anfertigung histologischer Präparate

Die zugeschnittenen Gelenkstückchen wurden aus der Formalin-Lösung entnommen, viermal für 20 Minuten ins Wasser gelegt und anschließend in einer aufsteigenden Reihe von Ethanollösungen (50, 70, 80, 90, 96 und 100%ig) für je zweimal 12 Stunden entwässert. Zum Entfetten wurden die Proben für 4 Tage im Xylol unter Vakuum gehalten. Die Lösung wurde dabei einmalig nach 2 Tagen gewechselt. Danach wurden die Proben für 7 Tage bei 4 °C unter Vakuum mit Methylmetacrylat (Herstellung siehe Abs. 9.1.1) infiltriert. Anschließend wurden die Proben in Gläser gebracht, in Methylmetacrylat eingelegt und bis zum kompletten Aushärten im Wasserbad bei 28 °C gelagert. Nach dem Aushärten wurden die Blöcke aus den Gläsern entfernt, auf erforderliche Blockgrösse verkleinert. Mit Leica Historesin Mounting Medium® (Leica Instruments GmbH, Nussloch, Deutschland) wurden auf die Blöcke Kunststoffrahmen geklebt, damit sie geschnitten werden konnten.

Mithilfe einer Präzisionsinnenlochsäge (Leica® SP 1600, Leica Instruments GmbH, Nussloch, Deutschland) wurden Dickschnitte (300 µm) angefertigt. Die Schnitte

erfolgten in Richtung der Probeentnahme. Diese Dickschnitte wurden über 24 Stunden auf einer horizontalen Ebene unter Bleigewichten geglättet, mit entionisiertem Wasser gewaschen, mit 70%igem Alkohol entfettet und mit einem Spezialklebstoff (Cementit® CA 12, Merz + Benteli AG, Niederwangen, Schweiz) auf ebenso entfettete Acrylglasplatten (Perspex GS 3mm, Wachendorf AG, Basel, Schweiz) aufgeklebt. Danach wurden die Schnitte mithilfe einer Schleif- und Poliermaschine (Planopol-V 401, Struers A/S, Rodovre, Dänemark) auf die Dicke von 40 µm abgeschliffen und mit Toluidinblau-O-Färbung (siehe Abs. 9.1.2) gefärbt.

Für die Anfertigung von Dünnschnitten (5 µm), wurden die Probenblöcke verkleinert, in die Teflonformen (D. Nadler, Jossi AG, Islikon, Schweiz) gelegt, mit Methylmetacrylat überschichtet und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach etwa 4-6 Tagen waren die neuen Blöcke hart. Mit Leica Historesin Mounting Medium® wurden auf die Blöcke Kunststoffrahmen geklebt und sie wurden aus den Teflonformen gelöst. Die Dünnschnitte wurden mit einem Mikrotom (Leica® RM 2155, Leica Instruments GmbH, Nussloch, Deutschland) angefertigt und mit Toluidinblau-O-Färbung (siehe Kap. 9.1.2) und van-Kossa/McNeal-Tetrachrom-Färbung (siehe Kap. 9.1.3) gefärbt.

3.8. Beurteilung der Knorpelschäden

Die gefärbten Präparate (Dick- und Dünnschnitte) wurden in einem Lichtmikroskop (Leica® DMR, Leica Instruments GmbH, Nussloch, Deutschland) beurteilt. Dafür wurden die Knorpeloberflächen von Humeruskopf und Glenoid in 3 Zonen aufgeteilt: (1) lateral, (2) zentral und (3) medial (siehe Abb. 14). Im ersten Schritt wurden die mit Toluidinblau-O gefärbten Schnitte allgemein untersucht. Die Knorpelveränderungen wurden beschrieben. Anschließend wurden die Knorpelbereiche nach histologisch-histochemischem Gradierungssystem von Mankin (siehe Tab. 4) ausgewertet. Im zweiten Schritt wurde in den nach van Kossa/McNeal gefärbten Dünnschnitten die Integrität der Tidemark-Linie begutachtet. Die Zoneneinteilung erfolgte wie oben beschrieben. Die Anzahl der Durchbruchstellen wurde ermittelt, in dem man bei 50x

Vergrößerung in jeder Zone je 3 Mikroskopfelder auszählte und daraus ein Mittelwert und Standardabweichung berechnete. Die Ergebnisse beider Bewertungen wurden miteinander verglichen. Das Gradierungssystem nach Mankin galt als Goldstandard.

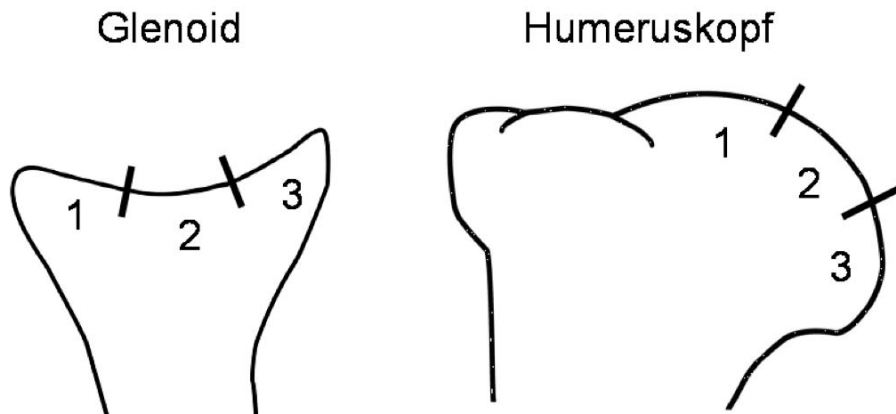


Abb. 14: Zoneneinteilung der Knorpelbereiche am Glenoid und Humeruskopf: (1) lateral, (2) zentral, (3) medial

Tab. 4: Histologisch-histochemisches Gradierungssystem nach Mankin

I	Struktur	Grad
	normal	0
	unregelmässige Oberfläche	1
	Pannus und unregelmässige Oberfläche	2
	Spalt bis in die Übergangsschicht	3
	Spalt bis in die Radiärschicht	4
	Spalt bis in die kalzifizierte Schicht	5
	totale Dysorganisation	6
II	Zellen	Grad
	normal	0
	diffuser Zellreichtum	1
	Cluster	2
	Zellarmut	3
III	Toluidinblau-O-Färbung	Grad
	normal	0
	Farbintensität leicht reduziert	1
	Farbintensität mittelgradig reduziert	2
	Farbintensität stark reduziert	3
	Färbung nicht sichtbar	4
IV	Integrität der Knorpel-Knochengrenze	Grad
	intakt	0
	von Blutgefässen durchbrochen	1

3.9. Statistische Auswertung der Ergebnisse

Erhobene Daten wurden mit Hilfe des SPSS-Programms (Statistical Package for the Social Science, Stanford University, USA), Version 17 für Macintosh analysiert. Es wurden eine monofaktorielle Varianzanalyse (ANOVA Repeated Test), Posthoc-Test nach Bonferroni und eine bivariate Korrelation nach Pearson durchgeführt. Als „statistisch signifikant“ galten Werte $p < 0,05$. Die Werte $p < 0,08$ wurden als „tendenziell signifikant“ bezeichnet.

4. Ergebnisse

4.1. Operative Eingriffe und Rehabilitation

Die erste Operation verlief bei allen Tieren komplikationslos. Alle Schafe waren sofort nach der Operation steh- und gehfähig. Die Tiere 2208, 2209, 2211 und 2212 entwickelten im operierten Bereich geringgradige Serome, die sich nach kurzer Zeit ohne zusätzliche Therapie zurück bildeten. Die folgenden 15 Wochen bis zum zweiten Eingriff verbrachten die Tiere in einem Offenstall mit Weidegang ohne Probleme mit dem Allgemeinbefinden oder dem Bewegungsapparat zu haben.

Der Dehnapparat konnte bei allen Tieren planmäßig implantiert werden. Beim Tier 2201 musste 4 Wochen nach der Implantation die Sehne mit einem neuen Faden an den Apparat befestigt werden, da der erste Faden gerissen war. Bei den Tieren 2203 und 2204 musste in der ersten Woche nach der Implantation der komplette Apparat ausgetauscht werden, da der Draht abgebrochen war. Eine Woche später musste bei Schaf 2203 der Draht aus dem gleichen Grund wieder erneuert werden. Das Schaf 2208 erhielt 2 Wochen nach der Implantation einen neuen Dehnapparat, da der erste an der Fixationsstelle ausgebrochen war.

Ungeachtet täglicher ärztlicher Versorgung der Austrittsstelle des Drahtes, konnten Wundinfektionen in diesem Bereich nicht bei allen Tieren vermieden werden. In meisten Fällen konnten sie lokal unter Kontrolle gehalten werden. Bei den Tieren 2202, 2205, 2206 und 2210 kam es zur Ausbreitung der Infektion und irreversiblen Schädigung des Sehnenstumpfes von *M. infraspinatus*. Die Refixation der Sehne war aus diesem Grund nicht mehr möglich. Deswegen wurden diese Tiere vorzeitig euthanasiert (Schaf 2205: 34 Tage nach der Implantation, Schafe 2202, 2206 und 2210: 42 Tage nach der Implantation).

Sechs Wochen nach dem zweiten Eingriff wurden bei insgesamt 7 Schafen (2201, 2203, 2204, 2208, 2209, 2211, 2212) die Dehnapparate entfernt und die Sehne des *M. infraspinatus* an ihre ursprüngliche Position fixiert. Dabei wurde festgestellt, dass bei Tier 2201 der Apparat an allen Schrauben gelockert war und der Knochenchip längs in 2 Teile zerfallen war. Beim Schaf 2208 war der Apparat an 2 Schrauben gelockert. In den folgenden 12 Wochen zeigten alle Tiere gutes Allgemeinbefinden, das Schaf 2204 entwickelte einen Abszess oberhalb der Fixationsstelle. Dieser

konnte aber mit Spülungen und antibiotischer Therapie binnen einer Woche vollständig abheilen. Die Schafe 2208 und 2212 bekamen durch die Verbände leichte Druckstellen am Karpalgelenk, die durch Anlegen von Verbänden mit Wundsalbe schnell heilten.

Für weitere Auswertungen wurden Tiere in zwei Gruppen unterteilt:

1. Gruppe: Schafe, bei denen eine Refixation des *M. infraspinatus* stattgefunden hat: 2201, 2203, 2204, 2208, 2209, 2211, 2212

2. Gruppe: Schafe, die vor der Refixation des *M. infraspinatus* euthanasiert wurden: 2202, 2205, 2206, 2210

4.2. Probenentnahme und Anfertigung der histologischen Schnitte

Die Probenentnahme verlief planmäßig sofort nach der Euthanasie der Tiere. Alle Proben wurden aufbereitet wie im Kapitel 3.7 beschrieben ist. Für die Anfertigung der Methylmetacrylat-Blöcke für die Dünnschnitte mussten die Proben passend zu den Teflonformen verkleinert werden. Dabei wurde die Zoneneinteilung der Knorpeloberfläche beachtet. Trotz der Größenreduktion der Präparate kam bei der Anfertigung der Schnitte immer wieder zur Faltenbildung oder gar zur Verkneulung des Schnittes so dass die Beurteilung am Rand des Präparates schlecht möglich war. Das Problem konnte aber durch das Nachschneiden gelöst werden.

4.3. Histologische Beurteilung

4.3.1. Knorpeldicke

Am Anfang der Untersuchung wurden alle mit Toluidinblau-O gefärbten Schnitte ausgewertet. Anhand der Dickschnitte konnte das Gesamtbild des Knorpels beurteilt werden. In den Dünnschnitten wurden einzelne Veränderungen detailliert angeschaut. Um die Beschreibung zu erleichtern wurde die Knorpeloberfläche in laterale, mittlere und mediale Zonen unterteilt (siehe Kap. 3.8). Während die Knorpelschicht am Humeruskopf über die ganze Länge der untersuchten Bereiche gleichmäßig dick war, war bei allen Tieren beidseitig eine Verminderung der Knorpeldicke an der Glenoidoberfläche feststellbar (siehe Abb. 20 im Anhang). Diese Verminderung der Knorpeldicke wurde in folgenden Glenoidzonen beobachtet (siehe Tab. 5):

- Übergang zwischen der lateralen und der mittleren Zonen: (siehe Abb. 18) in 64% aller Gelenke, darunter sieben linke und sieben rechte Glenoide
- Ende lateraler Zone bis Mitte mittlerer Zone: zwei rechte und zwei linke Glenoide
- Mitte lateraler Zone bis zum Anfang mittlerer Zone: zwei rechte Glenoide
- komplette laterale Zone bis zum Anfang mittlerer Zone: ein linker Glenoid
- Ende lateraler Zone und komplette mittlere Zone: ein linker Glenoid

In drei rechten und in vier linken Schultergelenken war die Knorpeldicke am Glenoid um etwa 30% reduziert. In übrigen Gelenken zeigte sich die Reduktion um mindestens 50%. In einem linken Glenoid (Schaf 2204) war die Knorpeldicke um etwa um 30% am Ende lateraler Zone und um 50% über die ganze mittlere Zone reduziert.

Tab. 5: Verminderung der Knorpeldicke im rechten und linken Glenoid (betroffene Bereiche sind in der Tabelle grau markiert, hellgrau: Dickenverminderung um etwa 30%, dunkelgrau: Dickenverminderung um mindestens 50%)

Schaf- nummer	rechtes Glenoid									linkes Glenoid								
	lateral			zentral			medial			lateral			zentral			medial		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2201																		
2202																		
2203																		
2204																		
2205																		
2206																		
2208																		
2209																		
2210																		
2211																		
2212																		

4.3.2. Randzonen des Glenoidknorpels

Die Randzonen des Glenoidknorpels wurden vergleichend beurteilt. Dabei zeigten sich die Unterschiede zwischen dem lateralen und medialen Rand sowie zwischen den rechten und linken Gliedmaßen. Eine tabellarische und graphische Darstellung der Ergebnisse finden sich in Tab. 6 und Abb. 15. Medial zeigte der Knorpel meistens sowohl im rechten als auch im linken Glenoid eine langsame gleichmäßige Abnahme der Dicke in Richtung Glenoidrand (siehe Abb. 23 im Anhang). Bei 27% (3/11) der Tiere konnte sowohl im linken als auch im rechten Gelenk eine Pannusbildung am medialen Glenoidrand beobachtet werden. Am lateralen Glenoidrand konnte Pannus in 91% (10/11) rechter und in 73% (8/11) linker Schulter gesehen werden. Die Knorpelschicht am lateralen Glenoidrand bildete in 73% (8/11) rechter Gelenke und in 45% (5/11) linker Gelenke eine Einsenkung der Oberfläche (siehe Abb. 22 im Anhang). Am medialen Glenoidrand konnten gleiche Veränderungen in zwei rechten und in einem linken Schultergelenk beobachtet werden. Eine gleichmäßige Abnahme der Knorpeldicke am lateralen Rand des Glenoids wurden in je zwei Gelenken rechts und links entdeckt. In allen

Randbereichen konnte eine Reduktion der Farbintensität des gefärbten Knorpels festgestellt werden. In den untersuchten rechten Schultern war das zu 82% (9/11) am lateralen und zu 73% (8/11) am medialen Rand. In den linken, nicht operierten Schultern zeigte der Knorpel am lateralen Rand in 64% (7/11) der Fälle und am medialen Rand in 45% (5/11) der Fälle einen Verlust der Färbekraft.

Tab. 6: Veränderungen an den Randbereichen des Glenoidknorpels

Glenoid zone	Anzahl der Tiere			
	Einsenkung des Knorpels	Pannusbildung	Abnahme der Knorpeldicke	Verlust der Farbintensität
rechts lateral	73% (8/11)	91% (10/11)	18% (2/11)	82% (9/11)
rechts medial	18% (2/11)	30% (3/11)	73% (9/11)	73% (8/11)
links lateral	45% (5/11)	73% (8/11)	9% (1/11)	64% (7/11)
links medial	9% (1/11)	30% (3/11)	91% (10/11)	45% (5/11)

4.3.3. Bewertung der Knorpelveränderungen nach Mankin

Mit Hilfe von Mankin`s Gradierungssystem wurden die Knorpelveränderungen in den mit Toluidinblau-O gefärbten Dick- und Dünnschnitte quantitativ beurteilt. Dabei wurden beide Versuchstiergruppen, operierte Seite (rechts) und Kontrollseite (links), sowie die Zoneneinteilung der Gelenksflächen berücksichtigt. Für jeden der vier Beurteilungskriterien (Oberflächenstruktur, Zellbeschaffenheit, Verlust der Farbintensität, Integrität der Tidemark-Linie) wurden einzelne MG vergeben (siehe Kapitel 3.8), die am Ende einen MS, den Gesamtwert, für jede Zone bildeten. Alle von Mankin beschriebenen Knorpelveränderungen konnten in den beurteilten Knorpelschnitten gefunden werden. In der Tab. 10 im Anhang sind die Mittelwerte einzelner MG und MS mit Standardabweichungen aufgeteilt nach Zonen und Merkmalen zusammen gefasst.

Zusätzlich zu den Osteoarthritis-Merkmalen, die in dem Gradierungssystem berücksichtigt wurden, wurden in den Schnitten folgende Knorpelveränderungen beobachtet: kleine Chondrozyten mit piknotischen Kernen, Bildung von intensiv gefärbten Höfen um die Chondrozyten und blasige, vakuolenähnliche Aufhellungen in der intrazellulären Matrix (siehe Abb. 24 und Abb. 25 im Anhang).

Veränderungen der Glenoidränder

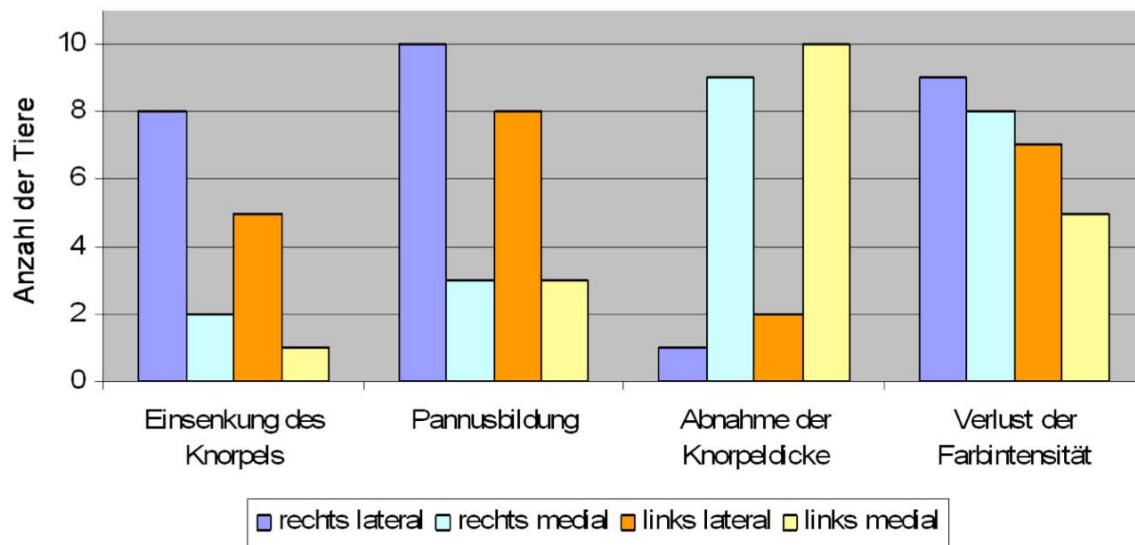


Abb. 15: graphische Darstellung der Veränderungen an den Randzonen des Glenoidknorpels

4.3.3.1. Mankin Score

Die MS der Knorpelbeurteilung von Humerus und Glenoid inklusive Standardabweichungen sind in der Tab. 7 und Abb. 16 zusammen gefasst und graphisch dargestellt. Bei der Beurteilung von MS für einzelne Knorpelbereiche sind signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Tieren beider Gruppen aufgefallen. Hier sind die Ergebnisse stichpunktartig aufgeführt:

- die operierten Gelenke waren immer stärker verändert als Kontrollgelenke; Ausnahme zentraler Glenoidbereich bei Tieren zweiter Gruppe (kein Unterschied zwischen operierter Seite und Kontrollseite)
- der Glenoidknorpel war bei Tieren zweiter Gruppe sowohl auf der operierten Seite als auch auf der Kontrollseite stärker verändert als bei den Tieren der ersten Gruppe

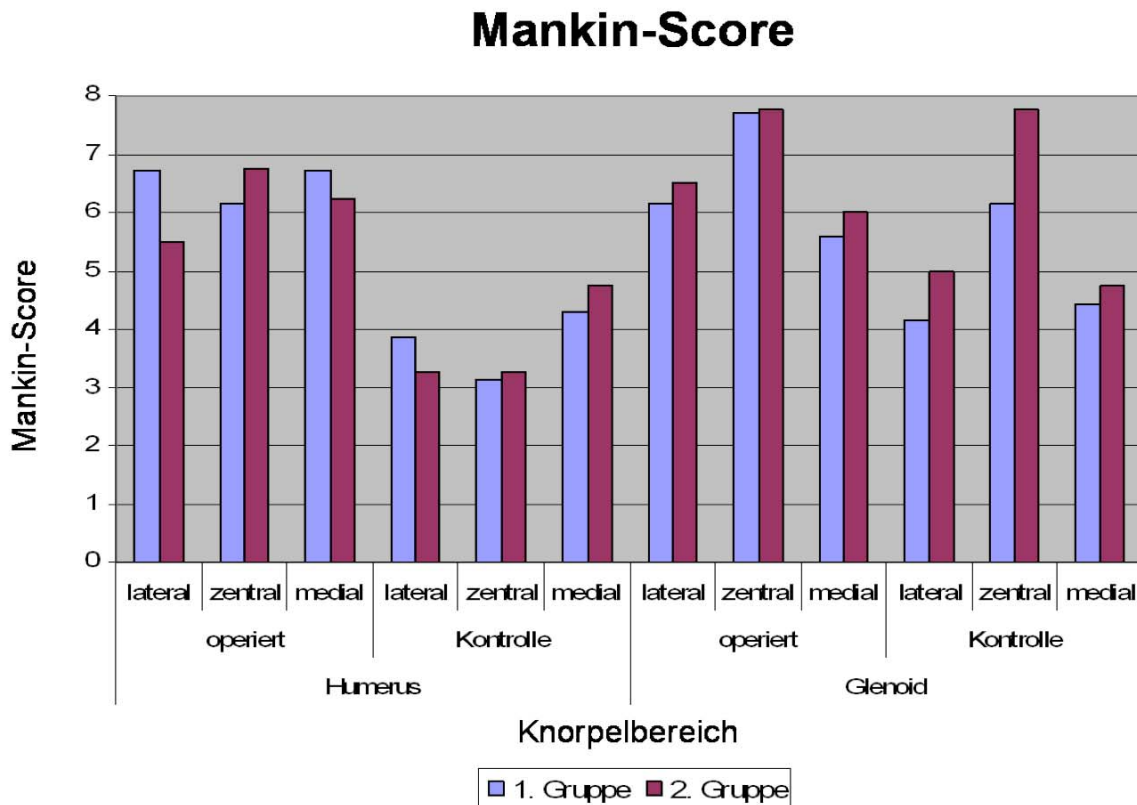


Abb. 16: vergleichende Knorpelbeurteilung von Humerus und Glenoid nach Mankin (Mittelwerte)

- der Humerusknorpel in den operierten Gelenken war lateral und medial bei den Tieren der ersten Gruppe mehr verändert als bei Tieren der zweiten Gruppe
- der Humerusknorpel in den Kontrollgelenken war zentral bei Tieren der zweiten Gruppe mehr verändert als bei Tieren erster Gruppe
- das Glenoid war zentral immer stärker verändert als lateral und medial
- der Humerus war in den Kontrollgelenken medial stärker verändert als lateral und zentral; in den operierten Gelenken der ersten Gruppe waren Veränderungen medial und lateral gleich stark und in der zweiten Gruppe war der zentrale Humerusbereich am meisten betroffen
- auf der Kontrollseite war der Glenoidknorpel immer stärker betroffen als der korrespondierende Humerusknorpel

- bei Tieren der ersten Gruppe war auf der operierten Seite lateral und medial der Humerus, zentral das Glenoid mehr verändert
- bei Tieren der zweiten Gruppe war auf der operierten Seite lateral und zentral der Humerus und medial das Glenoid stärker betroffen

Tab. 7: Knorpelbeurteilung nach Mankin (Gesamtwerte mit Standardabweichungen)

Knochen	Gelenk	Knorpelbereich	Mankin Score	
			1. Gruppe	2. Gruppe
Humerus	operiert	lateral	6,71±1,60	5,50±0,58
		zentral	6,14±1,77	6,75±2,06
		medial	6,71±1,49	6,25±0,96
	Kontrolle	lateral	3,86±1,07	3,25±0,96
		zentral	3,14±1,07	3,25±0,96
		medial	4,29±1,80	4,75±1,89
Glenoid	operiert	lateral	6,14±0,69	6,50±1,00
		zentral	7,71±2,06	7,75±1,26
		medial	5,57±1,27	6,00±0,00
	Kontrolle	lateral	4,14±1,57	5,00±1,63
		zentral	6,14±1,77	7,75±0,50
		medial	4,43±1,90	4,75±1,25

4.3.3.2. Korrelationsanalyse

Mithilfe der bivarianten Korrelationsanalyse nach Pearson wurden Zusammenhänge der Veränderungen verschiedener Knorpelbereiche einer Gelenkfläche (Humerus oder Glenoid), Veränderungen korrespondierender Knorpelbereiche (Humerus und Glenoid) in einem Gelenk sowie Veränderungen gleicher Knorpelbereiche im operierten Gelenk und in dem Kontrollgelenk ermittelt. Die Übersicht einzelner Ergebnisse ist in der Tab. 11 im Anhang zu finden. Zur Verbesserung der Anschaulichkeit wurde auf einzelne Werte verzichtet. Die Korrelationen wurden farbig dargestellt (dunkelblau - signifikant negative Korrelation, $p < 0,05$; blau – tendenziell

negative Korrelation, $p < 0,08$; dunkellila - signifikant positive Korrelation, $p < 0,05$; lila – tendenziell positive Korrelation, $p < 0,08$).

1. verschiedene Knorpelbereiche einer Gelenksfläche:

Humerus, operierte Seite: signifikant negative Korrelation zwischen dem lateralen und dem medialen Bereich, tendenziell negative Korrelation zwischen dem zentralen und dem medialen Bereich

Humerus, Kontrollseite: tendenziell positive Korrelation zwischen dem lateralen und dem zentralen Bereich

Glenoid, operierte Seite: keine Korrelationen feststellbar

Glenoid, Kontrollseite: tendenziell negative Korrelation zwischen den lateralen und den medialen Bereichen

2. korrespondierende Knorpelbereiche an zwei Gelenksflächen:

operierte Seite: signifikant negative Korrelation zwischen dem lateralen Humerusbereich und dem zentralen Glenoidbereich

Kontrollseite: signifikant negative Korrelation zwischen dem zentralen Glenoidbereich und dem medialen Humerusbereich, signifikant positive Korrelation medial, tendenziell positive Korrelation zwischen dem lateralen Humerusbereich und dem zentralen und dem medialen Glenoidbereich

3. gleiche Knorpelbereiche der operierten Gelenke und der Kontrollgelenke:

Glenoid: signifikant negative Korrelation zwischen dem lateralen Glenoidbereich der Kontrollseite und dem zentralen und dem medialen Bereich des operierten Glenoids, tendenziell positive Korrelation zwischen dem lateralen Glenoidbereich operierter Schulter und dem medialen Glenoidbereich der Kontrollschulter

Humerus: tendenziell positive Korrelation zwischen dem lateralen Bereiche der Kontrollschulter und dem lateralen und dem zentralen Bereich operierter Schulter

4.3.4. Morphologie der Tidemark-Linie

Sowohl in den Dickschnitten als auch in den Dünnschnitten konnten in manchen Glenoiden in der Toluidinblau-O-Färbung die Einsenkungen der Tidemarklinie bzw. der gesamten Zone des kalzifizierten Knorpels beobachtet werden (siehe Abb. 21 im Anhang). Bei zwei Tieren (Schaf 2201 und Schaf 2206) war diese Veränderung im rechten sowie im linken Gelenk zu finden. In fünf Fällen war die Einsenkung nur einseitig zu finden, bei drei Tieren (Schaf 2205, Schaf 2209 und Schaf 2212) auf der linken und bei zwei Tieren (Schaf 2203 und Schaf 2211) auf der rechten Seite. Diese Veränderung lag immer im Bereich der zentralen Zone. Es konnten keine vermehrten Läsionen des Knorpels in diesem Bereich beobachtet werden.

4.3.4.1. Anzahl der Durchbruchstellen

Für die Beurteilung der Tidemark-Linie wurde van-Kossa/McNeal-Färbung der Dünnschnitte verwendet (siehe auch Kap. 2.4). In jeder Zone wurde die Anzahl der Durchbruchstellen bestimmt. Dabei wurden unterschiedlich große Durchbruchstellen beobachtet: kleine (schmäler als die breite des kalzifizierten Knorpels), mittelgroße (etwa so groß wie die Breite des kalzifizierten Knorpels), große (größer als die Breite des kalzifizierten Knorpels). Die Resultate sind in der Tab. 8 aufgeführt und auf der Abb. 17 graphisch dargestellt. Die ermittelten Einzelwerte zeigten untereinander signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Die Zusammenfassung der Ergebnisse ist hier stichpunktartig aufgeführt:

- die operierten Gelenke waren immer stärker verändert als Kontrollgelenke (Ausnahme: zentraler Glenoidbereich bei Tieren zweiter Gruppe)
- die Gelenksflächen bei den Tieren der zweiten Gruppe waren sowohl auf der operierten Seite als auch auf der Kontrollseite stärker verändert als bei Tieren der ersten Gruppe (Ausnahme: zentraler Glenoidbereich im operierten Gelenk bei Tieren der ersten Gruppe)
- der Humerus war medial immer stärker verändert als lateral und zentral

- das Glenoid war zentral immer stärker verändert als lateral und medial (Ausnahme: operierte Seite, Tiere der zweiten Gruppe, lateraler Bereich mehr betroffen)
- auf der Kontrollseite war der Glenoidknorpel in beiden Gruppen lateral und zentral stärker betroffen als der korrespondierende Humerusknorpel, medial war das Verhältnis dagegen umgekehrt
- bei den Tieren der ersten Gruppe war auf der operierten Seite lateral und zentral das Glenoid, medial dagegen der Humerus mehr verändert
- bei den Tieren der zweiten Gruppe war auf der operierten Seite lateral das Glenoid, zentral und medial dagegen der Humerus mehr betroffen

4.3.4.2. Korrelationsanalyse

Die Auswertung wurde durchgeführt, wie im Kapitel 4.3.3.2 bereits beschrieben. Eine Übersicht der einzelnen Ergebnisse ist in der Tab. 12 im Anhang zu finden. Auch hier wurde zwischen signifikant und tendenziell signifikant unterschieden (siehe Kap. 3.9). Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse waren wie folgt:

1. verschiedene Knorpelbereiche einer Gelenkfläche:
keine Korrelationen feststellbar
2. korrespondierende Knorpelbereiche beider Gelenksflächen:
operierte Seite: signifikant positive Korrelation zwischen dem medialen Humerusbereich und dem zentralen Glenoidbereich, tendenziell negative Korrelation zwischen dem lateralen Humerusbereich und dem zentralen Glenoidbereich
Kontrollseite: signifikant negative Korrelation zwischen dem zentralen Glenoidbereich und dem lateralen Humerusbereich.
3. gleiche Knorpelbereiche der operierten Gelenke und der Kontrollgelenke:
keine Korrelationen feststellbar

Tab. 8: Beurteilung der Tidemark-Linie nach Anzahl der Durchbruchstellen (Mittelwerte mit Standardabweichungen)

Knochen	Gelenk	Knorpelbereich	Anzahl der Durchbruchstellen	
			1. Gruppe	2. Gruppe
Humerus	operiert	lateral	0,90±0,57	1,74±0,83
		zentral	0,52±0,38	1,91±1,26
		medial	1,94±0,80	3,32±1,58
	Kontrolle	lateral	0,42±0,41	0,75±0,57
		zentral	0,38±0,40	0,75±0,57
		medial	0,85±0,79	1,41±0,17
Glenoid	operiert	lateral	1,63±0,49	1,90±0,87
		zentral	2,23±2,25	1,08±0,57
		medial	1,14±0,46	1,16±0,69
	Kontrolle	lateral	1,23±0,53	1,24±0,87
		zentral	1,52±0,46	1,65±1,05
		medial	0,61±0,48	1,08±0,83

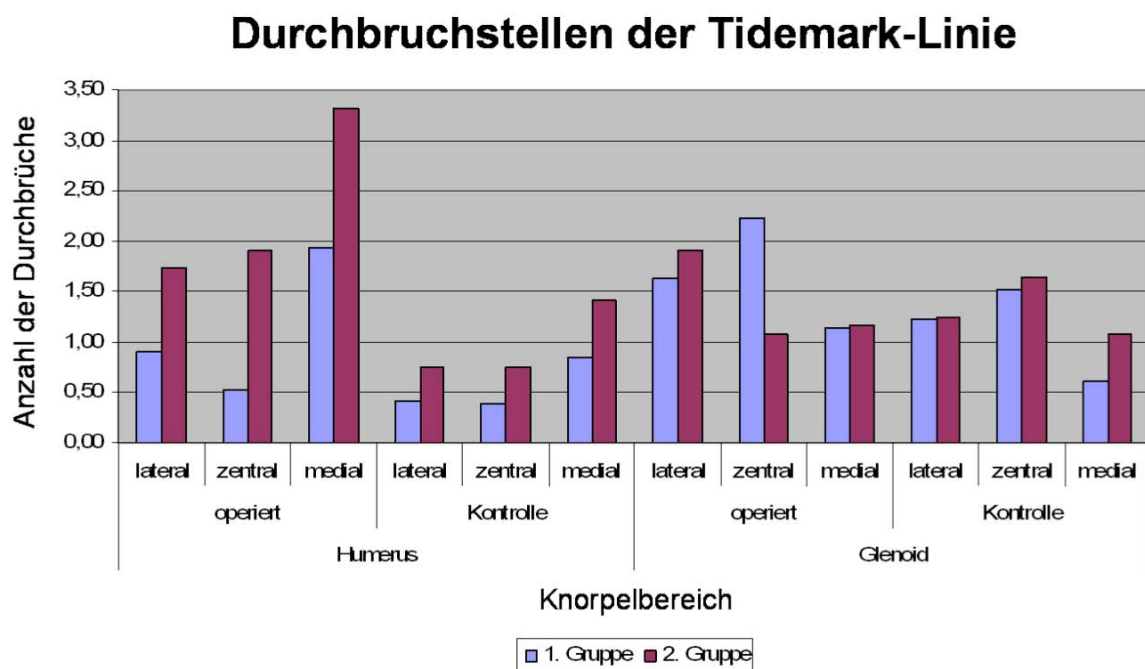


Abb. 17: vergleichende Beurteilung der Tidemark-Linie nach Anzahl der vorhandenen Durchbruchstellen (Mittelwerte)

5. Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit war die Knorpelveränderungen im Schultergelenk nach experimenteller operativer Durchtrennung des Sehnenansatzes von *M. infraspinatus* zu evaluieren. Folgende Hypothesen sollten bestätigt werden:

- (1) operative Durchtrennung des Sehnenansatzes des *M. infraspinatus* führt durch Stabilitätsverlust im Schultergelenk zur Entstehung einer OA
- (2) Ausmaß krankhafter Knorpelveränderungen (Grad der OA) in einem instabilen Schultergelenk ist größer als in dem kontralateralen gesunden Schultergelenk
- (3) chirurgische Refixation des Sehnenansatzes des *M. infraspinatus* führt zur Verbesserung der Stabilität im Schultergelenk, beugt dadurch das Fortschreiten der Knorpeldegeneration vor und begünstigt die Knorpelregeneration.

Des Weiteren sollte geprüft werden ob der beschriebene Versuchsaufbau als Tiermodel für die Entwicklung einer OA im Schultergelenk geeignet ist.

5.1. Aufbau der Studie und Versuchstiere

Wie bereits im Kapitel 3.1 angesprochen, entstand diese Forschungsarbeit als Partnerprojekt der Studie zur Untersuchung von fettiger Muskeldegeneration und Retraktion bei chronischer experimenteller Sehnenruptur beim Schaf. Somit waren der Aufbau sowie die Durchführung der Studie im Wesentlichen vorbestimmt und richteten sich nach bereits bekannten Versuchsmodellen zur Untersuchung der Muskelphysiologie⁵⁰. Trotzdem war die Planung der Partnerstudie auch für das Vorhaben dieser Forschungsarbeit aus folgenden Gründen gut geeignet:

1. In der Humanmedizin ist bekannt, dass die Erkrankungen der Manschettenmuskulatur mit der Entwicklung einer OA im Schultergelenk vergesellschaftet ist (siehe Kapitel 2.5)
2. Der Studienaufbau ist mit den in der Literatur bereits beschriebenen Studien für Untersuchung der OA im Hüftgelenk⁴⁵, Kniegelenk⁵⁷⁻⁵⁹ und Karpalgelenk⁴⁷ bei Schaf und Hund gut vergleichbar.

Die Entscheidung das Schaf als Tiermodell für Omarthritis zu nehmen basierte auf der Tatsache, dass diese Tiere in ihrer Knorpelphysiologie, Größe und Gewicht dem Menschen sehr nahe stehen. Außerdem sind sie genügsam, pflegeleicht und angenehm im Umgang. Somit stellen sie ein gut geeignetes, wirtschaftlich attraktives Versuchstiermodell sowohl für die Humanmedizin als auch für die Tiermedizin dar. Für die Untersuchungen im humanmedizinischen Bereich müssen allerdings anatomische Unterschiede berücksichtigt werden (siehe Kapitel 2.6). Die Untersuchungen wurden an 11 Schafen durchgeführt. Die Geschlechtsverteilung (6 weibliche und 5 männlich-kastrierte Schafe) war nahezu gleich. Der Einfluss des Geschlechtes auf die Entwicklung der OA wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht ermittelt.

5.2. Operative Eingriffe und Rehabilitation

Während des Versuchs wurden drei operative Eingriffe an den Schafen durchgeführt (siehe Tab. 2 im Kapitel 3.1). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die aufgetretenen Komplikationen überwiegend mit dem Anbringen des Spanners und mit der Muskeldehnung verbunden waren. Die Gründe dafür sind eine permanente Gewichtsbelastung der Gliedmaße, eine recht hohe Beweglichkeit der Schulterregion sowie die Durchtrittsstelle des Spanners durch die Haut. Diese Durchtrittsstelle ist wie eine offene Wunde zu verstehen, die permanent einer Kontaminationsgefahr ausgesetzt war. Das führte dazu, dass trotz eines sorgfältigen und fachgerechten Umganges und der prophylaktischen antiphlogistischen (Carprofen) und antibiotischen (Penicillin G und Gentamycin) Versorgung der Tiere Infektionen nicht vermieden werden konnten. Der Grund dafür, dass bei vier Tieren die Infektion nicht unter Kontrolle gebracht werden konnte, lag vor allem daran, dass die Ursache der Entzündung nicht endgültig zu beseitigen war. Die Perforationsstelle der Haut durch den Spanner stand den Erregern als Eintrittspforte trotz aller Pflege- und Therapiemaßnahmen weiter zur Verfügung. Es ist fraglich ob eine bakteriologische Untersuchung (inkl. Antibiotogramm) und anschließende Anpassung medikamentöser Therapie zu einer Besserung bzw. zur Heilung geführt hätten, vor allem weil bereits

in allen Fällen eine Nekrose des Sehnenansatzes aufgetreten war. Das vorzeitige Ausscheiden von vier Tieren aus dem Versuch war der Grund für die Einteilung der Schafe in zwei ungleiche Gruppen:

1. Gruppe: 7 Tiere, Refixation des Sehnenansatzes
2. Gruppe: 4 Tiere, Euthanasie vor der geplanten Refixation des Sehnenansatzes.

Für die zukünftigen weiterführenden Untersuchungen der Knorpelveränderungen aufgrund der Gelenkinstabilität infolge chirurgischer Durchtrennung des Sehnenansatzes des *M. infraspinatus* sollte der beschriebene Studienaufbau vereinfacht werden. Der zweite operative Eingriff (Einsetzen des Spanners) inkl. Rehabilitationszeit sollte dabei modifiziert werden. Idealerweise sollte ein Spanner ohne Durchtrittsstelle durch die Haut verwendet werden. Das würde die Komplikationsrate deutlich verringern. Der retrahierte Muskel kann an seinem Sehnenansatz ohne vorhergehende Dehnung nicht ohne weiteres refixiert werden, da dieser sich im Normalfall um mehrere Zentimeter (3-5 cm) zurückzieht. Eine Vordehnung des Muskels und Refixation der Sehne mit einem Spanner, der nicht mit der Außenwelt kommuniziert und damit hauptverantwortlich für Infektion ist, ist inzwischen gelungen (Publikation in Vorbereitung). Damit könnte die Regeneration des Gelenkknorpels unter stabilen Bedingungen eingehender untersucht werden.

Im Gegensatz dazu konnten die Durchtrennung des Sehnenansatzes sowie seine Refixation mit Erfolg durchgeführt werden. Die beiden Eingriffe selbst sowie die Rehabilitation danach wurden von den Tieren nahezu problemlos überstanden. Das konnte durch das gute Allgemeinbefinden, Fressverhalten und erhaltene Bewegungsaktivität bestätigt werden. Die meiste Versuchszeit mussten die Tiere auch nicht auf ihre gewohnten Haltungsbedingungen verzichten und konnten sogar über mehrere Wochen im Offenstall mit Weidegang gehalten werden. Die ersten sechs Wochen nach der Refixation des Sehnenansatzes war die Zeit, in der die Tiere am stärksten in ihrer natürlichen Haltung beeinflusst wurden. Sie mussten über vier Wochen stehend in den Netzen gehalten werden. Die Maßnahme war aber erforderlich um die Belastung auf die refixierte Sehne zu minimieren und die Heilung zu unterstützen. Aus dem gleichen Grund musste die betroffene Gliedmaße mithilfe von einer halbierten Holzkugel hoch gestellt und durch einen Verband gestützt

werden. Eine bessere Entlastung und/oder Stabilisierung der Schulter ist für diese Zwecke leider nicht möglich. Bei der Auswertung der Ergebnisse muss jedoch beachtet werden, dass das Schaf im Stehen natürlicherweise alle vier Gliedmaßen belastet. Bei einer einseitigen Entlastung kommt es automatisch dazu, dass die kontralaterale Gliedmaße mehr beansprucht wird, was alleine schon zur Veränderungen im Gelenk führen kann. Bei Pferden wird das als Belastungsarthritis bezeichnet. Wenn die kontralaterale Seite im Versuch als Kontrollseite verwendet wird, sollte dieser Einfluss berücksichtigt werden.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass der hier beschriebene Versuchsaufbau zur Untersuchung osteoarthritischer Veränderungen der Schulter infolge der Gelenksinstabilität auch in modifizierter, vereinfachter Form verwendet werden könnte. Um die Pathogenese der frühen Knorpelveränderungen durch falsche Belastung zu untersuchen würde eine einfache Tenotomie des *M. infraspinatus* genügen. Sollte hingegen die Regenerationsmöglichkeit des Knorpels nach mechanischer Stabilisierung des Gelenkes mit oder ohne Medikamente (Chondroprotektiva, Knorpel-modifizierende Substanzen etc.) untersucht werden, wäre die Stabilisierung mit dem modifizierten Spanner angebracht. Auch wenn der Spanner in der Zwischenzeit deutlich verbessert wurde, so handelt es sich dennoch um ein anspruchsvolles Tiermodell, welches Erfahrung für die Operation und auch eine darauf abgestimmte Infrastruktur mit intensiver Pflege für Tiere bedeutet.

5.3. Probenentnahme und Anfertigung histologischer Schnitte

In dieser Studie wurde die Knorpeloberfläche von Glenoid und Humerus nur partiell untersucht. Die Probenentnahme erfolgte in Verlaufsrichtung der Sehne des *M. infraspinatus* (siehe Kapitel 3.6). Die untersuchten Knorpelbereiche hatten bereits makroskopische Anzeichen einer OA im Sinne von Rötung, Rauigkeit und Einsenkung der Knorpeloberfläche (Ergebnisse sind hier nicht aufgeführt). So ist anzunehmen, dass diese Bereiche am meisten betroffen waren. Es muss jedoch beachtet werden, dass die mikroskopischen Veränderungen im erkrankten Knorpel viel früher zustande kommen als die makroskopischen Läsionen zu sehen sind (siehe Kapitel 2.3). Es kann also nicht ausgeschlossen werden, dass hier nicht untersuchte Knorpeloberflächen des Gelenkes ebenso betroffen waren und dass das

das Ausmaß der Knorpelerkrankung viel größer ist. Für die zukünftigen Untersuchungen von Knorpelveränderungen aufgrund einer Gelenksinstabilität ist es ratsam eine makroskopische und mikroskopische Beurteilung kompletter Gelenkoberflächen durchzuführen. Um die makroskopische Situation der Gelenkoberfläche nach der Schlachtung besser beurteilen zu können, wäre eine Färbung des Knorpels mit Tinte zu empfehlen, denn diese stellt auch kleinste Unregelmäßigkeiten der Knorpeloberfläche dar⁶⁰.

5.4. Histologische Beurteilung

5.4.1. Knorpeldicke

Bei der histologischen Beurteilung der Schnitte ist aufgefallen, dass die Dicke des Glenoidknorpels nicht überall gleich war. Dabei zeigte der Humerusknorpel diese Veränderungen nicht. Eine Verminderung der Knorpeldicke um mindestens 30% häufiger aber um 50% war bei Tieren beider Gruppen sowohl in der rechten als auch in der linken Schulter zu finden. In den meisten Fällen lag sie am Übergang zwischen der lateralen und der mittleren Zone (siehe Abb. 18). Vereinzelt dehnte sich der veränderte Bereich sogar über die ganze laterale oder zentrale Zone.

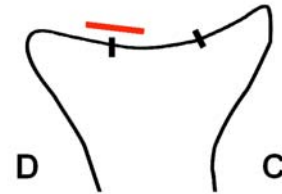
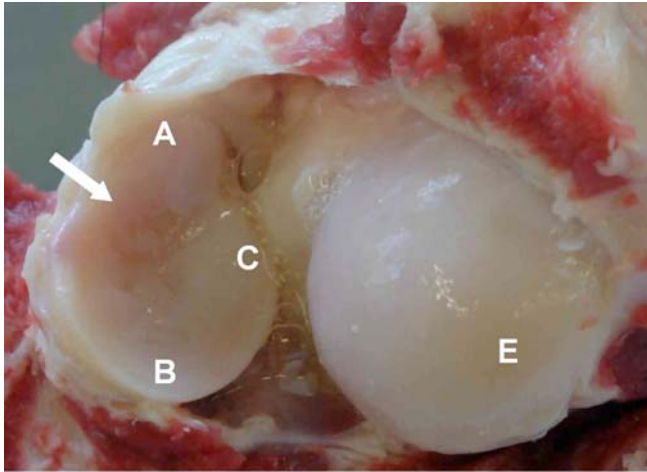


Abb. 18: „bare area“ im Glenoid eines Kontrollgelenkes (weißer Pfeil/rote Linie, „bare area“; A, cranialer Rand, B, caudaler Rand; C, medialer Rand; D, lateraler Rand, E, Humeruskopf

Nach Wissensstand der Autorin gibt es zurzeit keine Berichte, welche die strukturellen Besonderheiten des Glenoidknorpels beim Schaf oder auch bei anderen Tierarten beschreiben. In der Humanmedizin wurde dagegen die Glenoidmorphologie bereits evaluiert. Es ist bekannt, dass die Knorpeldicke sich zur Mitte der konkaven kommaförmigen Glenoidoberfläche hin reduziert. Dieser Bereich bietet den engsten Kontakt zwischen dem Glenoid und dem Humerus und gilt auch als Zone stärkerer Druckbelastung^{14,61}. Er wird als „bare area“ oder „bare spot“ bezeichnet. In mehreren Untersuchungen wurde versucht seine Position und Morphologie zu ermitteln. Manche Autoren definierten das Areal als einen permanenten Bestandteil des Glenoids, welcher sich immer im Zentrum des runden hinteren Teils der Glenoidoberfläche befindet. Er zeichnet sich durch die geringere Knorpeldicke und erhöhte Dichte des darunter liegenden Knochens aus⁶¹⁻⁶³. Die anderen Autoren betonten zum einen die Variabilität der Glenoidoberfläche, zum anderen auch die Tatsache, dass die „bare area“ weder ein optischer noch ein mathematischer Mittelpunkt der Glenoidoberfläche ist. Es entsteht als natürliche Folge der Knorpelverteilung, korreliert nicht mit der Dicke des subchondralen Knochens und stellt eine Besonderheit der Glenoidoberfläche dar^{34,64-66}. Über die Ätiologie wurde bis jetzt kaum etwas berichtet. Die Forscher sind sich aber einig, dass die „bare area“ zu keinen pathologischen Veränderungen im Glenoid gehört. Es wird vermutet, dass das Areal unter einer aktiven Kräfteeinwirkung geformt wird. Die Hypothese wird durch Untersuchungen fetaler humaner Schultergelenke belegt, denn dort konnte keine „bare area“ festgestellt werden^{51,67}. Die Ergebnisse unserer

Untersuchungen sprechen dafür, dass ein ähnliches Areal auch in der Glenoidoberfläche des Schafes existiert. Es konnte leider keine vollständige Information über seine Größe und Lage gesammelt werden, weil keine vollständige Untersuchung der Glenoidoberfläche erfolgte. Man kann aber davon ausgehen, dass es sich hier ebenso um eine physiologische Besonderheit handelt, denn die Veränderungen waren gleichermaßen in den operierten Gelenken und in den Kontrollgelenken zu finden. Auch makroskopisch konnte dieser Bereich nachvollzogen werden (siehe Abb. 18). Das Ausmaß der Veränderungen (Arealgröße und Reduktion der Knorpeldicke) war zwar variabel, schien jedoch nicht im Zusammenhang mit der OA zu stehen. Eine Verdichtung der subchondralen Knochenplatte in diesem Bereich konnte nicht beobachtet werden. Trotz der Größenvariabilität lag das Areal immer im Bereich zwischen der lateralen und der zentralen Zone. Es bleibt zu prüfen, ob es sich hier um einen Bereich mit den meisten Kräfteeinwirkungen und den Bereich der engsten Kontaktfläche zwischen Humerus und Glenoid handelt. Dafür sind weitere Untersuchungen an Tieren ohne orthopädische Probleme erforderlich. Die gewonnenen Ergebnisse sind für die Bewertung der Glenoidveränderungen sehr nützlich und helfen pathologische und physiologische Strukturen voneinander zu unterscheiden.

5.4.2. Randzonen des Glenoidknorpels

Bereits bei der Probenentnahme konnte makroskopisch registriert werden, dass die Glenoidränder stärker verändert waren als die übrige Oberfläche. Mikroskopisch präsentierten sich die Veränderungen lateral und medial unterschiedlich präsentierten. Am lateralen Rand wurde in den meisten Fällen eine abrupte Einsenkung der Knorpeloberfläche mit Pannusbildung und Verlust der Farbeintensität registriert. Die operierten Gelenke waren hier deutlich stärker betroffen als die Kontrollgelenke. Auf der medialen Seite konnte in den meisten Fällen eine gleichmäßige Verringerung der Knorpeldicke gesehen werden. Der Pannus war hier sowohl rechts als auch links nur in 30% der Proben sichtbar. Es ist deutlich weniger als auf der lateralen Seite, wo es bei 73% der linken Glenoide und bei 91% der rechten Glenoide zu finden war. Der Verlust der Farbinsintensität war an allen Glenoidrändern zu sehen. Dabei waren die Glenoide der operierten Seite

häufiger betroffen als diese der Kontrollseite, und medial zeigte sich der Farbverlust seltener als lateral.



Abb. 19: Stellung der Vordergliedmaßen des Schafes

Anhand der Ergebnisse lässt sich vermuten, dass die gefundenen Veränderungen auch in einem physiologischen Zustand vorkommen und durch die Gelenkmechanik mitbestimmt werden. Eine artenspezifische Stellung der Vordergliedmaßen beim Schaf, sogenannte X-Beinigkeit oder Valgusstellung (siehe Abb. 19), bedingt eine Rotation des Humeruskopfes nach lateral, so dass der laterale Glenoidrand etwa mittig auf dem Humeruskopf zu liegen kommt und somit mehr Kräfteeinwirkung erfährt. Mit der Zeit kommt es durch die Bewegung zur physiologischen Abnutzung bzw. Degeneration dieses Bereiches, was sich als Einsenkung der Knorpelschicht, Pannusbildung und Verminderung des Proteoglykangehaltes in der Matrix präsentiert. Das erklärt die Tatsache, dass auch an den stabilen Gelenken (Kontrolle) die Veränderungen zu finden waren. Die Sehne des *M. infraspinatus* übernimmt zum großen Teil die Funktion des lateralen glenohumeralen Bandes (siehe Kapitel 2.1). So resultiert ihre Durchtrennung in einer vermehrten Gelenkinstabilität bzw. in einer lateralen Subluxation, wobei die Belastung des lateralen Glenoidrandes verstärkt wird. Das dürfte der Grund dafür sein, dass die Veränderungen am lateralen Glenoidrand an den operierten Gelenken häufiger zu finden waren als an den Kontrollgelenken. Die gleichmäßige Verringerung der Knorpelschicht am medialen Rand kann als physiologisch bezeichnet werden. Dafür spricht die Tatsache, dass dieses Bild in 91% der Kontrollgelenke zu finden war. Auch hier konnten degenerative Veränderungen (Pannus, Verminderung des Proteoglykangehaltes)

gesehen werden, wobei es im Vergleich zum lateralen Rand seltener der Fall war. Allerdings muss dabei berücksichtigt werden, dass die Erkrankung und die darauf folgende Entlastung der betroffenen Gliedmaße dazu führen kann, dass die kontralaterale Gliedmaße mehr beansprucht wird und dadurch stärkere degenerative Veränderungen im Knorpel aufweist. Interessant war die Feststellung, dass der mediale Glenoidrand operierter Gelenke seltener eine Verringerung der Knorpeldicke zeigte als der in den Kontrollgelenken. Die Erklärung dafür liegt wahrscheinlich ebenso in der lateralen Subluxation, wodurch der laterale Glenoidrand mehr belastet und der mediale Glenoidrand dagegen mehr entlastet wird. Leider liegen zurzeit keine Berichte vor, die Knorpelmorphologie des Schultergelenkes beim Schaf beschreiben und zur Diskussion der im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse verwendet werden können. So sollte es das Zukunftsziel sein, die Knorpelstruktur eines gesunden Schultergelenkes beim Schaf gründlicher zu evaluieren.

5.4.3. Bewertung der Knorpelveränderungen nach Mankin

5.4.3.1. Allgemeines

Bei der Knorpelbeurteilung nach Mankin ist aufgefallen, dass die Standardabweichungen für einzelne MG im Vergleich zu den Mittelwerten recht hoch waren und in manchen Fällen sogar die Mittelwerte überstiegen. Die Erklärung dafür ist zum einen das semiquantitative Beurteilungsverfahren, zum anderen die relativ kleinen und ungleichen Gruppengrößen. Diese Faktoren führten zu einer relativ hohen Variabilität der Ergebnisse, die eine vergleichende statistische Auswertung insofern negativ beeinflussten, indem in einigen Fällen nur Tendenzen und keine statistisch signifikante p-Werte aufgezeigt werden konnten. Aus diesem Grund kann in der Diskussion weniger auf signifikante statistische Werte eingegangen werden. Es wird aber trotzdem versucht die Ergebnisse unter dem Aspekt der Fragestellung zu erläutern und die Tendenzen festzuhalten (siehe Kap. 3.9).

Mithilfe der Korrelationsanalyse wurde versucht folgende Zusammenhänge der Knorpelveränderungen im Gelenk nachzuvollziehen:

1. wie verändern sich einzelne Knorpelbereiche einer Gelenkfläche zueinander

2. wie verändern sich komplementäre Knorpeloberflächen vom Glenoid und Humerus zueinander
3. wie verändern sich die gleichen Knorpelbereiche im operierten Gelenk und in dem Kontrollgelenk
4. gibt es Unterschiede der Knorpelveränderungen in den Gelenken bei Tieren beider Gruppen.

Auch hier konnten nur wenige signifikante Resultate ermittelt werden. Zusätzlich zu den oben bereits genannten Gründen müssen auch anatomische Gegebenheiten beachtet werden. Die Glenoidoberfläche ist kleiner als die Gelenkfläche vom Humerus⁶. Somit ist es zu erwarten, dass der Humerus geringere Veränderungen aufweist, weil die darauf einwirkenden Kräfte besser über seine größere Oberfläche verteilt werden können. Zum anderen sind die eingeteilten Knorpelzonen vom Glenoid kleiner als die vom Humerus. Das bedeutet, dass die komplementären Zonen im Gelenk nicht direkt übereinander liegen. Außerdem spielt die Funktion des *M. infraspinatus* im Schultergelenk eine Rolle. Zusätzlich zur Flexion und Abduktion arbeitet er als Supinator (siehe Tab. 1). Das bedeutet, dass die Durchtrennung seines Sehnenansatzes zu einer zusätzlichen Verschiebung der Positionen komplementärer Knorpelbereiche zueinander führt. Diese Veränderung konnte mithilfe der durchgeführten Untersuchungen nicht nachvollzogen werden, da die Knorpelflächen nur in einer Ebene und nicht vollständig untersucht wurden.

5.4.3.2. Vergleich operierter Gelenke und der Kontrollgelenke

Es konnte gezeigt werden, dass die operierten Gelenke stärker von den osteoarthritischen Veränderungen betroffen waren als die Kontrollgelenke. Das bestätigt die Tatsache, dass die Durchtrennung des Sehnenansatzes vom *M. infraspinatus* zur Entwicklung einer OA im Schultergelenk beiträgt. Es konnte jedoch auch festgestellt werden, dass die Kontrollgelenke ähnliche Veränderungen in einem geringeren Ausmaß aufweisen. Einerseits kann dies durch eine physiologisch vorhandene Degeneration erklärt werden, andererseits spielt hier auch eine mögliche vermehrte Belastung eine Rolle. Sie wird auf die gesunde kontralaterale Gliedmaße übertragen, wenn die erkrankte Gliedmaße geschont wird. Es konnten jedoch keine positiven Korrelationen zwischen den Veränderungen der operierten Gelenke und

der Kontrollgelenke gesehen werden. Vielmehr wurde ein signifikant negatives Verhältnis festgestellt. Dieses Ergebnis bestätigt die Möglichkeit die kontralaterale Gliedmaße als Kontrollseite für die Untersuchungen verwenden zu können.

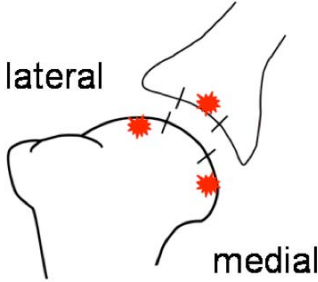
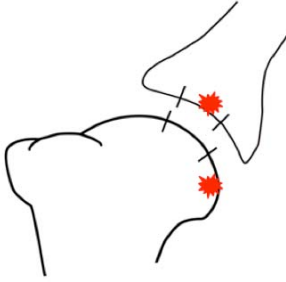
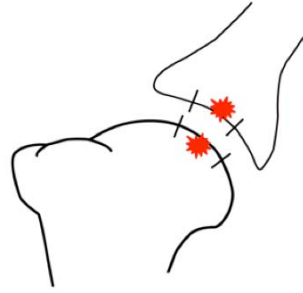
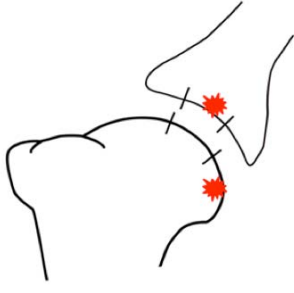
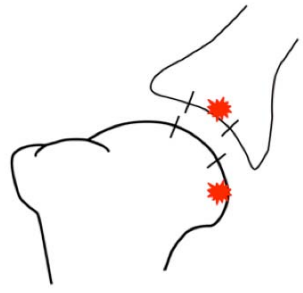
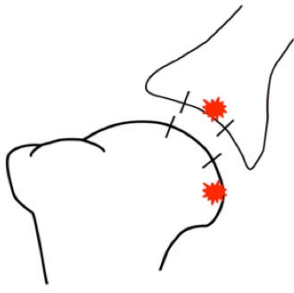
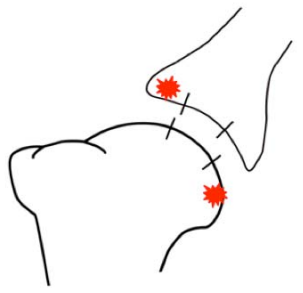
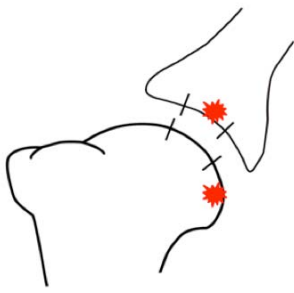
5.4.3.3. Vergleich einzelner Zonen einer Gelenkfläche und einzelner Zonen komplementärer Gelenkflächen

Einzelne Knorpelbereiche einer Gelenkfläche sowie die der korrespondierenden Gelenkflächen zeigten sich ungleich stark betroffen (siehe Tab 9). Dabei präsentierten sich die Veränderungen in den **Kontrollgelenken** bei den Tieren beider Gruppen in einem ähnlichen Verteilungsmuster. Die Glenoide waren immer zentral, die Humerusköpfe dagegen medial stärker verändert. Gleichzeitig waren die Glenoidzonen immer mehr betroffen als die dazu korrespondierenden Humeruszonen. Diese Feststellung darf nicht mit der Beurteilung des Gleniodrandes verwechselt werden (siehe Kap. 5.4.2). Dort handelt es sich lediglich um die Beurteilung eines Teils der lateralen bzw. der medialen Zone. Das Verteilungsmuster der Veränderungen hängt möglicherweise ebenso mit der natürlichen Stellung der Vordergliedmaßen beim Schaf zusammen (siehe auch Kap. 5.4.2). So steht der Humerus in einem stabilen Gelenk in einer leichten lateralen Rotation zum Glenoid und wird somit medial mehr beansprucht. Unter einer stabilisierenden Wirkung von Manschettenmuskulatur werden die Druckkräfte von dem medialen Humeruskopfbereich auf das Zentrum bzw. auf die „bare area“ vom Glenoid übertragen. So zeigten sich die meisten Veränderungen im Glenoid zentral. Basierend auf den Ergebnissen wäre es logisch zu erwarten, dass die Veränderungen der medialen Humeruszone signifikant positiv mit denen der zentralen Glenoidzone korrelieren. Das Ergebnis fiel aber genau umgekehrt aus. Dagegen wurden signifikant positive Korrelationen medialer Zonen von Humerus und Glenoid, tendenziell positive Korrelationen lateraler Zonen von Humerus und Glenoid und tendenziell positive Korrelationen zwischen lateraler Humeruszone und zentraler Glenoidzone festgestellt. Diese Befunde sprechen dafür, dass in einem gesunden Gelenk die in der Bewegung einwirkenden Kräfte relativ gleichmäßig verteilt werden, so dass die korrespondierenden Knorpelflächen parallel degenerative Veränderungen entwickeln. Eine tendenziell positive Korrelation lateraler und

zentraler Humeruszonen spricht dafür, dass diese Bereiche parallel den Belastungen unterliegen, wobei eine tendenziell negative Korrelation zwischen der lateralen und der medialen Glenoidzonen auf ein umgekehrtes Belastungsverhältnis hinweist.

In den **operierten Gelenken** war das Glenoid in beiden Gruppen ebenso wie in den Kontrollgelenken zentral mehr betroffen, als lateral und medial. Die Veränderungen am Humerus waren dagegen anders verteilt. Bei Tieren der ersten Gruppe (nach Refixation) fanden sich die meisten Defekte lateral und medial, und bei Tieren der zweiten Gruppe (ohne Refixation) zentral. In der ersten Gruppe waren die Glenoidzonen immer stärker betroffen als die korrespondierenden Humeruszonen. In der zweiten Gruppe war lateral und zentral der Humerus, medial dagegen das Glenoid stärker verändert. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Durchtrennung des Sehnenansatzes des *M. infraspinatus* zum Stabilitätsverlust im Gelenk führt und dadurch ein anderes Verteilungsmuster der Knorpeldefekte am Humerus bedingt. Es ist möglich, dass es infolge der Instabilität zu einer Subluxation des Humerus nach lateral kommt und eine vermehrte Belastung des lateralen Glenoidrandes (siehe Kapitel 5.4.2) und des zentralen Humerusbereiches bewirkt. Das erklärt die Humerusveränderungen bei den Tieren der zweiten Gruppe. Durch die Refixation wird versucht die Gelenksmechanik wieder herzustellen. Doch kommt es möglicherweise durch einen starken Zug des verkürzten refixierten Muskels zur Rotation des Humeruskopfes nach medial, so dass der laterale Bereich des Humeruskopfes mehr belastet wird und deswegen auch mehr Veränderungen aufweist. Im Gegensatz zur Kontrollseite konnten hier keine positiven Korrelationen zwischen einzelnen Knorpelzonen einer Gelenkfläche oder zwischen den komplementären Knorpelzonen beider Gelenkflächen festgestellt werden. Die Veränderungen der medialen Humeruszone korrelierten signifikant negativ mit denen der lateralen Zone und tendenziell negativ mit denen der zentralen Zone. Außerdem korrelierte die laterale Humeruszone signifikant negativ mit der zentralen Glenoidzone. Das unterschiedliche Verteilungsmuster der Knorpelveränderungen im Vergleich zur Kontrollseite und fehlende positive Korrelationen können hier als ein Hinweis auf eine ungleichmäßige Belastung verschiedener Knorpelflächen infolge der Instabilität gewertet werden. Dabei kann die Auswirkung der entzündlichen Prozesse auf die Knorpelstruktur bei Tieren der zweiten Gruppe nicht ausgeschlossen werden.

Tab 9: Verteilung der Knorpelläsionen bei den Tieren der verschiedenen Gruppen (am stärksten betroffene Bereiche sind mit Stern gekennzeichnet)

	operierte Seite	Kontrollseite
1. Gruppe	Mankin Score	
	 <p>lateral</p> <p>medial</p>	
2. Gruppe		
1. Gruppe	Durchbrüche der Tidemark-Linie	
		
2. Gruppe		

5.4.3.4. Auswirkung der Refixation des Sehnenansatzes von *M. infraspinatus* auf die Entwicklung einer Omarthritis

Um zu ermitteln welchen Einfluss die Refixation des Sehnenansatzes auf die Entwicklung einer OA hatte, wurden die Knorpelveränderungen zwischen den beiden Gruppen verglichen. Es sollte geprüft werden ob die chirurgische Refixation des Sehnenansatzes des *M. infraspinatus* zur Verbesserung der Stabilität im Schultergelenk führt und dadurch das Fortschreiten der Knorpeldegeneration vorbeugt und die Knorpelregeneration begünstigt. Dabei konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden. Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen die unterschiedlich große Gruppen und die ungleichen Versuchsbedingungen für Tiere beider Gruppen beachtet werden. Zum einen muss berücksichtigt werden, dass alle Tiere der zweiten Gruppe starke Entzündungen im Bereich des operierten Schultergelenkes hatten, die möglicherweise die Knorpelveränderungen mit verursacht hatten. Zum anderen lebten die Schafe der ersten Gruppe etwa doppelt so lang (34 Wochen), wie die Schafe der zweiten Gruppe (17 bzw. 18 Wochen). Somit erfolgte die Belastung der Gelenke länger. Das temporäre Hochstellen der operierten Gliedmaße nach der Refixation in der 22. Woche sorgte für ihre Entlastung. Diese Maßnahme ist mit der postoperativen Ruhigstellung des Schultergelenkes beim Menschen vergleichbar. Das Ergebnis spricht dafür, dass man durch die Refixation des Sehnenansatzes und Rehabilitation das Fortschreiten der Knorpeldegeneration vorbeugen bzw. minimieren kann, denn eine stärkere Beeinträchtigung der Knorpelstruktur bei den Tieren der ersten Gruppe konnte trotz längerer Belastungszeit nicht beobachtet werden. Eine Knorpelregeneration konnte jedoch durch die histologische Untersuchung nicht belegt werden. Durch die Kontrakturen und irreversible Vernarbungen der Sehne sowie durch die entstandenen Entzündungen und Verwachsungen ist keine vollständige Wiederherstellung der Gelenkmechanik und der physiologischen Gelenkfunktion möglich.

5.4.4. Morphologie der Tidemark-Linie

Bei sieben Tieren wurde eine ein- bzw. beidseitige Einsenkung der Tidemark-Linie im Glenoid festgestellt. Sowohl die Tiere der ersten Gruppe als auch die der zweiten Gruppe waren davon betroffen. Es gab keinen Unterschied zwischen der operierten Seite und der Kontrollseite. Es ist möglich, dass es eine physiologische Struktur der Glenoidpfanne ist und im Zusammenhang mit der „bare area“ steht. Für eine genaue Beschreibung dieser Struktur wäre in der Zukunft eine vollständige Untersuchung der Glenoidpfanne sinnvoll.

Die Integrität der Tidemark-Linie wurde anhand der Dünnschnitte in der van-Kossa/McNeal-Färbung beurteilt (siehe auch Kap. 2.4). Die Anzahl der Durchbruchstellen wurde für jede Knorpelzone ermittelt und anschließend mit der Mankin Score verglichen. Auch hier ist aufgefallen, dass die Standardabweichungen im Vergleich zu den ermittelten Mittelwerten recht hoch waren und in manchen Fällen die Mittelwerte überstiegen. Die Gründe dafür wurden bereits im Kapitel 5.4.3.1 diskutiert.

In der vergleichenden Betrachtung der MS und den Veränderungen der Tidemark-Linie konnte gesehen werden, dass oft die Knorpelbereiche mit einer höheren MS auch eine größere Anzahl an Durchbruchstellen der Tidemark-Linie zeigten (siehe Tab 9). In der Humanmedizin wurde bereits gezeigt, dass bei der Entwicklung einer OA der Aufbau der Tidemark-Linie unterschiedliche Stadien durchläuft. Es beginnt mit Zunahme der Breite im Anfangsstadium, dann kommt es beim Fortschreiten der Erkrankung zu einer vaskulären Invasion und anschließendem Abbau, bzw. Verschwinden der Tidemark-Linie bei zunehmender Mineralisierung der basalen und kalzifizierten Knorpelschicht⁶⁸. Das erklärt eine größere Anzahl der Durchbruchstellen der Tidemark-Linie in den Bereichen mit stärkeren Knorpelveränderungen. In der Korrelationsanalyse gab es jedoch nur wenige signifikante Ergebnisse. Diese wichen von den Resultaten der Beurteilung nach Mankin ab. Das kann durch folgende Faktoren bedingt sein: die Durchbruchstellen waren unterschiedlich groß, somit spiegelte die Anzahl der Durchbruchstellen nur unvollständig das Ausmaß der Veränderungen der Tidemark-Linie. Außerdem geschieht der Abbau der Tidemark-Linie im fortgeschrittenen Stadium der OA und kann also erst später diagnostiziert werden, während das Gradierungssystem nach Mankin bereits geringgradige Oberflächenveränderungen registriert. Bei der

Beurteilung korrespondierender Gelenksflächen zeigte sich eine signifikant positive Korrelation zwischen dem medialen Humerusbereich und dem zentralen Glenoidbereich in den operierten Gelenken. Dieses Verhältnis kann als ein Hinweis auf die Subluxation des Humeruskopfes nach lateral infolge der Durchtrennung des Sehnansatzes gewertet werden. Zusammenfassend kann man sagen, dass eine quantitative Bewertung der Integrität der Tidemark-Linie für die Knorpelbeurteilung verwendet werden kann. Wie bereits angesprochen, kommt es mit dem Fortschreiten der OA zum Abbau der Tidemark-Linie. Allerdings korreliert die Anzahl der Durchbrüche nicht immer mit dem Ausmaß der Veränderungen, da die Durchbruchstellen oft unterschiedliche Größe aufweisen. So sollte dieses Bewertungssystem in der Zukunft unter dem zusätzlichen Aspekt der Durchbruchgröße evaluiert werden. Dabei sollte beachtet werden, dass der Abbau der Tidemark-Linie im fortgeschrittenen Stadium der OA erfolgt. Es sollte besonders geprüft werden, ob diese Bewertungsmöglichkeit auch für die Erkennung geringgradiger osteoarthritischer Knorpelveränderungen geeignet ist.

6. Schlussfolgerungen und Ausblick

In der beschriebenen Studie wurden die Knorpelveränderungen im Schultergelenk nach experimenteller operativer Durchtrennung des Sehnenansatzes des *M. infraspinatus* evaluiert. Außerdem wurden auch einige strukturelle Besonderheiten des Knorpels im Schultergelenk („bare area“, Randzonen des Glenoids, Einsenkung der Tidemark-Linie) beschrieben. Nicht alle Resultate waren statistisch signifikant und müssen als Tendenzen gewertet werden. Es konnte gezeigt werden, dass die Durchtrennung des Sehnenansatzes zum Verlust der Gelenkstabilität führt und die Entwicklung einer OA bedingt. Des Weiteren wurde untersucht, ob eine chirurgische Gelenkstabilisierung durch Refixation des Sehnenansatzes einen positiven Verlauf auf die Entwicklung der OA hat. Dabei konnte ermittelt werden, dass die Refixation des Sehnenansatzes das Fortschreiten der Knorpeldegeneration vorbeugen bzw. minimieren kann. Diese Forschungsarbeit wurde als Partnerprojekt der Studie zur Untersuchung der fettigen Muskeldegeneration und Retraktion bei chronischer experimenteller Sehnenruptur beim Schaf durchgeführt und war somit in dem Aufbau und in der Durchführung im Wesentlichen vorbestimmt. Sie kann als Vorstudie verstanden werden und sollte eine Grundlage für Folgeuntersuchungen bilden. Der beschriebene Versuchsaufbau kann nach Modifikation (Wegfallen der Implantation des Spanners und der Dehnungsperiode) als Tiermodell für eine Entwicklung der OA im Schultergelenk infolge einer Ruptur der Rotatorenmanschette bei Mensch und Tier verwendet werden.

Das Zukunftsziel sollte es sein das vorgestellte Tiermodell weiter zu evaluieren. Vor allem sollte die Morphologie eines gesunden Knorpels im Schultergelenk vollständig beschrieben werden. Eine umfassendere Information darüber würde helfen, krankhafte Veränderungen des Knorpels besser zu erkennen. Des Weiteren wäre es ratsam eine modifizierte Studie (wie oben beschrieben) mit gleichen Gruppen und Versuchsbedingungen durchzuführen. Dabei sollte die Stabilität des Gelenkes, beispielsweise durch Prüfung der Bewegungswinkel vor und nach der Durchtrennung der Manschettenmuskulatur, genau ermittelt werden. Zusätzlich sollten die Knorpelflächen von Humerus und Glenoid vollständig histologisch untersucht werden.

7. Literaturverzeichnis

1. Derwin KA, Baker AR, Codsi MJ, et al: Assessment of the canine model of rotator cuff injury and repair. *J Shoulder Elbow Surg* 16:S140-148, 2007
2. Cameron ML, Kocher MS, Briggs KK, et al: The prevalence of glenohumeral osteoarthritis in unstable shoulders. *Am J Sports Med* 31:53-55, 2003
3. Hsu HC, Luo ZP, Stone JJ, et al: Correlation between rotator cuff tear and glenohumeral degeneration. *Acta Orthop Scand* 74:89-94, 2003
4. Brophy RH, Marx RG: Osteoarthritis following shoulder instability. *Clin Sports Med* 24:47-56, 2005
5. Lippitt S, Matsen F: Mechanisms of glenohumeral joint stability. *Clin Orthop Relat Res*:20-28, 1993
6. Edwald SL, Bell J-E, Levine WN, et al: Upper extremity considerations: osteoarthritis of the Shoulder, in Moskowitz RW, Altman RD, Hochberg MC, et al (eds): *Osteoarthritis: diagnosis and medical/surgical management* (ed fourth). Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, pp 339-347
7. Vasseur PB, Moore D, Brown SA: Stability of the canine shoulder joint: an in vitro analysis. *Am J Vet Res* 43:352-355, 1982
8. Speer KP: Anatomy and pathomechanics of shoulder instability. *Clin Sports Med* 14:751-760, 1995
9. Matsen FA, 3rd, Harryman DT, 2nd, Sidles JA: Mechanics of glenohumeral instability. *Clin Sports Med* 10:783-788, 1991
10. Bardet JF: Diagnosis of shoulder instability in dogs and cats: a retrospective study. *J Am Anim Hosp Assoc* 34:42-54, 1998
11. Kinzel GL, Van Sickle DC, Hillberry BM, et al: Preliminary study of the in vivo motion in the canine shoulder. *Am J Vet Res* 37:1505-1510, 1976
12. Nickel R, Schummer A, Seiferle E: Verbindungen der Knochen der Schultergliedmasse, in Freiwein J, Wille K-H, Wilkens H (eds): *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band 1*. Berlin und Hamburg, Paul Parey, 1992, pp 230-257
13. Howell SM, Galinat BJ: The glenoid-labral socket. A constrained articular surface. *Clin Orthop Relat Res*:122-125, 1989
14. Flatow EL, Soslowsky LJ, Ateshian GA, et al: Shoulder joint anatomy and the effect of subluxation and size mismatch on patterns of glenohumeral contact. *Orthop Trans*:803, 1991
15. Drake RL, Vogl W, Mitchell AWM: Obere Extremität, in Paulsen F (ed): *Gray's Anatomy für Studenten*. München/Jena, Elsevier, Urban & Fischer, 2007, pp 630-777
16. Kunkel KA, Rochat MC: A review of lameness attributable to the shoulder in the dog: part one. *J Am Anim Hosp Assoc* 44:156-162, 2008
17. Todhunter RJ: Anatomy and physiology of synovial joints, in McIlwraith CW, Trotter GW (eds): *Joint disease in the horse*. Philadelphia, W B Saunders Co, 1996
18. Vachon AM, Keeley FW, McIlwraith CW, et al: Biochemical analysis of normal articular cartilage in horses. *Am J Vet Res* 51:1905-1911, 1990
19. Sandell LJ, Heinegard D, Hering TM: Cell biology, biochemistry and molecular biology of articular cartilage in osteoarthritis in Moskowitz RW, Altman RD, Hochberg MC, et al (eds): *Osteoarthritis: diagnosis and medical/surgical management* (ed fourth). Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, pp 73-106

20. Kiely CM, Whittaker SP, Grant ME, et al: Type VI collagen microfibrils: evidence for a structural association with hyaluronan. *J Cell Biol* 118:979-990, 1992
21. Frisbie DD: Synovial joint biology and pathology, in Auer JA, Stick JA (eds): *Equine Surgery* (ed 3). St. Louis, W B Saunders Co, 2005, pp 1036-1055
22. Ogston A: The biological functions of the glucosaminoglycans, in Balazs EA (ed): *Chemistry and molecular biology of the interceluar matrix*. New York, Academic Press, 1970
23. Todhunter RJ, Jonston SA: Osteoarthritis, in Slatter D (ed): *Textbook of small animal surgery* (ed 3). St. Louis, W B Saunders Co, 2003, pp 2208-2246
24. Miosge N, Hartmann M, Maelicke C, et al: Expression of collagen type I and type II in consecutive stages of human osteoarthritis. *Histochem Cell Biol* 122:229-236, 2004
25. Dourado GS, Adams ME, Matyas JR, et al: Expression of biglycan, decorin and fibromodulin in the hypertrophic phase of experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 4:187-196, 1996
26. Imai K, Ohta S, Matsumoto T, et al: Expression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase and activation of progelatinase A in human osteoarthritic cartilage. *Am J Pathol* 151:245-256, 1997
27. Porter S, Clark IM, Kevorkian L, et al: The ADAMTS metalloproteinases. *Biochem J* 386:15-27, 2005
28. Bonde HV, Talman ML, Kofoed H: The area of the tidemark in osteoarthritis--a three-dimensional stereological study in 21 patients. *Apmis* 113:349-352, 2005
29. Burr DB, Radin EL: Microfractures and microcracks in subchondral bone: are they relevant to osteoarthrosis? *Rheum Dis Clin North Am* 29:675-685, 2003
30. Geyer G, Linss W: Toluidine blue staining of cartilage proteoglycan subunits. *Acta Histochem* 61:127-134, 1978
31. Poole AR, Nelson F, Hollander A, et al: Collagen II turnover in joint diseases. *Acta Orthop Scand Suppl* 266:88-91, 1995
32. Ray CS, P.A.R., Wayne MC: Use of synovial fluid and serum markers in articular disease in Trotter M (ed): *Joint disease in the horse*. Philadelphia, Saunders, 1996, pp 202-214
33. Matsui H, Shimizu M, Tsuji H: Cartilage and subchondral bone interaction in osteoarthrosis of human knee joint: a histological and histomorphometric study. *Microsc Res Tech* 37:333-342, 1997
34. Anetzberger H, Schulz C, Pfahler M, et al: Subchondral mineralization patterns of the glenoid after tear of the supraspinatus. *Clin Orthop Relat Res*:263-268, 2002
35. Mankin HJ, Lippiello L: Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. *J Bone Joint Surg Am* 52:424-434, 1970
36. van der Sluijs JA, Geesink RG, van der Linden AJ, et al: The reliability of the Mankin score for osteoarthritis. *J Orthop Res* 10:58-61, 1992
37. Hsu HC, Luo ZP, Cofield RH, et al: Influence of rotator cuff tearing on glenohumeral stability. *J Shoulder Elbow Surg* 6:413-422, 1997
38. Feeney MS, O'Dowd J, Kay EW, et al: Glenohumeral articular cartilage changes in rotator cuff disease. *J Shoulder Elbow Surg* 12:20-23, 2003
39. Konno N, Itoi E, Kido T, et al: Glenoid osteophyte and rotator cuff tears: an anatomic study. *J Shoulder Elbow Surg* 11:72-79, 2002
40. Akerblom S, Sjostrom L: Evaluation of clinical, radiographical and cytological findings compared to arthroscopic findings in shoulder joint lameness in the dog. *Vet Comp Orthop Traumatol* 20:136-141, 2007

41. Murphy SE, Ballegeer EA, Forrest LJ, et al: Magnetic resonance imaging findings in dogs with confirmed shoulder pathology. *Vet Surg* 37:631-638, 2008
42. Marcellin-Little DJ, Levine D, Canapp SO, Jr.: The canine shoulder: selected disorders and their management with physical therapy. *Clin Tech Small Anim Pract* 22:171-182, 2007
43. Stobie D, Wallace LJ, Lipowitz AJ, et al: Chronic bicipital tenosynovitis in dogs: 29 cases (1985-1992). *J Am Vet Med Assoc* 207:201-207, 1995
44. Turner AS: Experiences with sheep as an animal model for shoulder surgery: strengths and shortcomings. *J Shoulder Elbow Surg* 16:S158-163, 2007
45. Fichter RM-E: Am Schafmodel reproduziertes Femoroacetabuläres Impingement, häufigste Ursache der frühen Osteoarthritis beim nichtdysplastischen Hüftgelenk des Menschen, in MSRU, Vetsuisse Fakultät. Zürich, Universität Zürich, 2005
46. Burger C, Mueller M, Wlodarczyk P, et al: The sheep as a knee osteoarthritis model: early cartilage changes after meniscus injury and repair. *Lab Anim* 41:420-431, 2007
47. Mastbergen SC, Pollmeier M, Fischer L, et al: The groove model of osteoarthritis applied to the ovine fetlock joint. *Osteoarthritis Cartilage* 16:919-928, 2008
48. Calk M, Read R, Edwards S, et al: Changes in gait after bilateral meniscectomy in sheep: effect of two hyaluronan preparations. *J Orthop Sci* 13:514-523, 2008
49. Alfaqeh H, Norhamdan MY, Chua KH, et al: Cell based therapy for osteoarthritis in a sheep model: gross and histological assessment. *Med J Malaysia* 63 Suppl A:37-38, 2008
50. Schlemmer I: Experimentelle, schrittweise Reversion von fettiger Muskeldegeneration und Retraktion bei chronischer experimenteller Sehnenruptur beim Schaf, in MSRU, Vetsuisse-Fakultät Zürich, Universität Zürich, 2007
51. Coleman SH, Fealy S, Ehteshami JR, et al: Chronic rotator cuff injury and repair model in sheep. *J Bone Joint Surg Am* 85-A:2391-2402, 2003
52. Kelly BT, Turner AS, Bansal M, et al: In vivo healing after capsular plication in an ovine shoulder model. *Iowa Orthop J* 25:95-101, 2005
53. Klinger HM, Buchhorn GH, Heidrich G, et al: Biomechanical evaluation of rotator cuff repairs in a sheep model: suture anchors using arthroscopic Mason-Allen stitches compared with transosseous sutures using traditional modified Mason-Allen stitches. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 23:291-298, 2008
54. Gerber C, Schneeberger AG, Beck M, et al: Mechanical strength of repairs of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Br* 76:371-380, 1994
55. Meyer DC, Hoppeler H, von Rechenberg B, et al: A pathomechanical concept explains muscle loss and fatty muscular changes following surgical tendon release. *J Orthop Res* 22:1004-1007, 2004
56. Meyer DC, Lajtai G, von Rechenberg B, et al: Tendon retracts more than muscle in experimental chronic tears of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Br* 88:1533-1538, 2006
57. Appleyard RC, Burkhardt D, Ghosh P, et al: Topographical analysis of the structural, biochemical and dynamic biomechanical properties of cartilage in an ovine model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 11:65-77, 2003
58. Oakley SP, Lassere MN, Portek I, et al: Biomechanical, histologic and macroscopic assessment of articular cartilage in a sheep model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 12:667-679, 2004

59. Intema F, DeGroot J, Elshof B, et al: The canine bilateral groove model of osteoarthritis. *J Orthop Res* 26:1471-1477, 2008
60. Badlani N, Inoue A, Healey R, et al: The protective effect of OP-1 on articular cartilage in the development of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 16:600-606, 2008
61. Warner JJ, Bowen MK, Deng XH, et al: Articular contact patterns of the normal glenohumeral joint. *J Shoulder Elbow Surg* 7:381-388, 1998
62. Burkhart SS, Debeer JF, Tehrany AM, et al: Quantifying glenoid bone loss arthroscopically in shoulder instability. *Arthroscopy* 18:488-491, 2002
63. Ly JQ, Bui-Mansfield LT, Kline MJ, et al: Bare area of the glenoid: magnetic resonance appearance with arthroscopic correlation. *J Comput Assist Tomogr* 28:229-232, 2004
64. Aigner T, Vornehm SI, Zeiler G, et al: Suppression of cartilage matrix gene expression in upper zone chondrocytes of osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum* 40:562-569, 1997
65. Schulz CU, Pfahler M, Anetzberger HM, et al: The mineralization patterns at the subchondral bone plate of the glenoid cavity in healthy shoulders. *J Shoulder Elbow Surg* 11:174-181, 2002
66. Huysmans PE, Haen PS, Kidd M, et al: The shape of the inferior part of the glenoid: a cadaveric study. *J Shoulder Elbow Surg* 15:759-763, 2006
67. Tena-Arregui J, Barrio-Asensio C, Puerta-Fonolla J, et al: Arthroscopic study of the shoulder joint in fetuses. *Arthroscopy* 21:1114-1119, 2005
68. Oettmeier R, Abendroth K, Oettmeier S: Analyses of the tidemark on human femoral heads. II. Tidemark changes in osteoarthrosis-a histological and histomorphometric study in non-decalcified preparations. *Acta Morphol Hung* 37:169-180, 1989

8. Abkürzungsverzeichnis

ADAM	A Desintegrin And Metalloproteinase
EM	extrazelluläre Matrix
IL	Interleukin
MG	Mankin-Grad
MM	Matrix Metalloproteinase
MS	Mankin Score
MSRU	Musculoskeletal Research Unit
OA	OsteoarthritisAnhang

9. Anhang

9.1. Material und Methoden

9.1.1. Herstellen von Methylmetacrylat

Unter einem Sicherheitsabzug wurden folgende Chemikalien in einem Erlenmeyerkolben miteinander vermischt:

89,5%	Methacrylsäure-methylester (Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz)
10%	Dibutylphthalat (Merc-Schuchard, Hohenbrunn, Deutschland)
0,5%	Perkadox 16 (Dr. Grogg Chemie AG, Stetten, Schweiz)

Über 10 Minuten wurde die Lösung auf einem Magnetrührer gerührt und konnte danach sofort verwendet werden. Die Lagerung erfolgte im Kühlschrank bei 4° C.

9.1.2. Toluidinblau-O-Färbung

Zusammensetzung der Färbelösung:

99,875	Phosphatpuffer, pH 8
0,125	Toluidin-Blau O

Entplastifizieren:

3 x 30 min	2-Methoxyethylacetat, Nr. 8.06061 (Merck, VWR Int., Dietikon Schweiz)
2 x 3 min.	Xylol
2 x kurz	Ethanol (100%)
2 x kurz	Ethanol (96%)
1x kurz	Ethanol (70%)
3 x kurz	deionisiertes Wasser

Färben:

2 x 2 min.	Ameisensäure (0,7%)
10-15 min.	Toluidin-Blau O (auf 60° C aufgewärmt)

Fertigstellen:

Spülen	entionisiertes Wasser
Trocknen	Löschpapier, Lufttrocknen
1 x kurz	Xylol
Eindecken	Shandon-Mount Toluene Base (Histocom AG, Zug, Schweiz)

9.1.3. Van Kossa/McNeal Tetrachrom-Färbung

Zusammensetzung der Färbelösungen:

van Kossa 1:

5 g	Silbernitrat
100 ml	entionisiertes Wasser

van Kossa 2:

5 g	Natriumhydrogencarbonat
25 ml	Formaldehyd (37%)
100 ml	entionisiertes Wasser

van Kossa 3:

5 g	Natriumthiosulfat
100 ml	entionisiertes Wasser

McNeal Tetrachrom Stammlösung:

0,5 g	Methylenblau-Chlorid
0,8 g	Azur A-Eosinat
0,1 g	Methylenviolett
250 ml	Glyzerin
250 ml	Methanol

Die Substanzen werden miteinander vermischt und für 12 Stunden bei 50° C und für 72 Stunden bei 37° C stehen gelassen. Danach wird die Lösung filtriert und bei Raumtemperatur dunkel gelagert. Für die Färbung wird die Stammlösung auf 5%ige Konzentration mit destilliertem Wasser verdünnt und erst dann verwendet.

9.2. Ergebnisse

9.2.1. Bilder

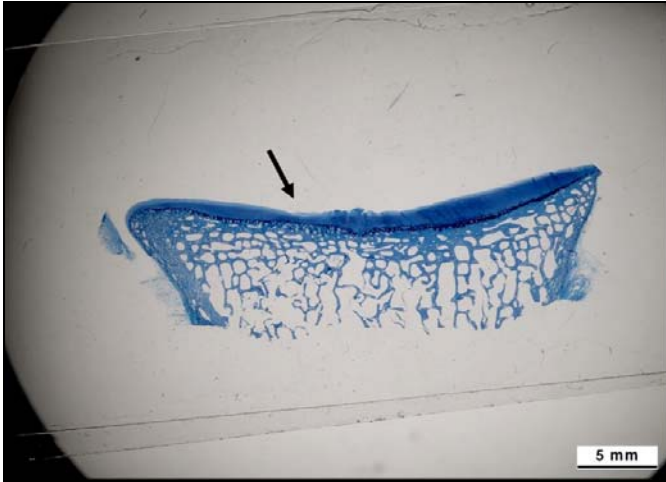


Abb. 20: Einsenkung der Knorpeloberfläche am Übergang von der lateralen zur zentralen Zone (Schaf 2201, rechtes Glenoid)

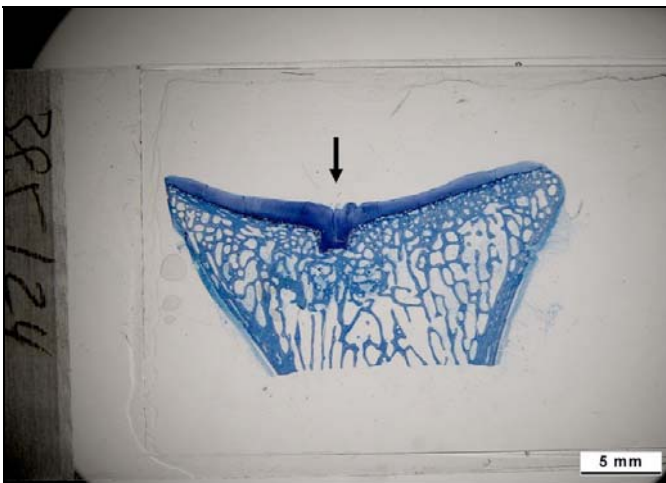


Abb. 21: Einsenkung der Tidemark-Linie (Schaf 2206, linkes Glenoid)

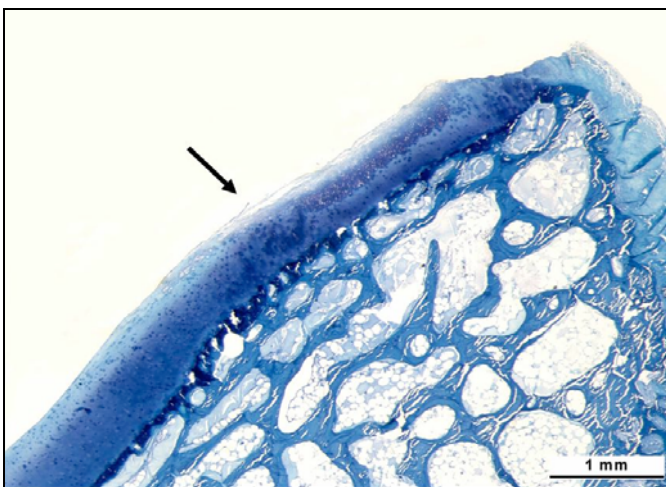


Abb. 22: Einsenkung der Knorpeloberfläche am lateralen Glenoidrand, mit deutlicher Pannusbildung (Schaf 2205, rechtes Glenoid)

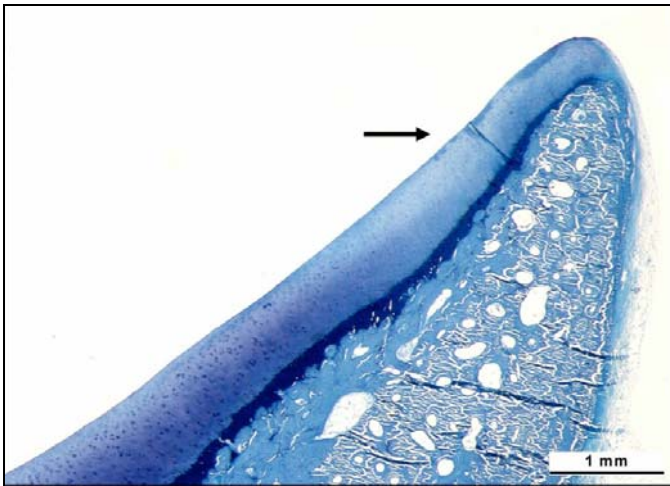


Abb. 23: gleichmäßige Abnahme der Knorpeldicke zum Ende der Gelenksfläche am medialen Glenoidrand (Schaf 2204, linkes Glenoid)

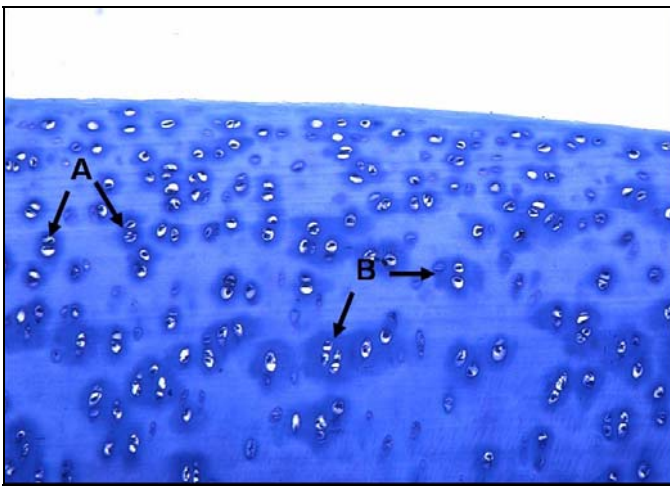


Abb. 24: Knorpelveränderungen bei Osteoarthritis (A, pyknotische Kerne, B, Hofbildung um die Chondrozyten)

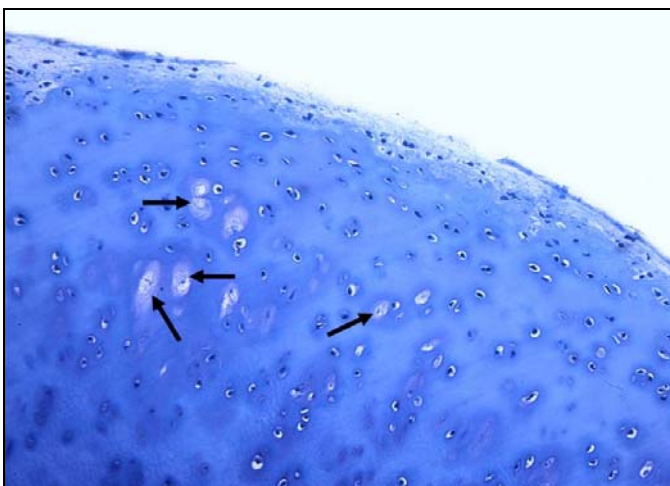


Abb. 25: vakuolenähnliche Aufhellungen in der intrazellulären Matrix

9.2.2. Tabellen

Tab. 10: Ergebnisse der Knorpelbeurteilung nach Mankin (Mittelwerte mit Standardabweichungen)

Mankin Score	Gruppe	Humerus						Glenoid					
		operiert			Kontrolle			operiert			Kontrolle		
		lateral	zentral	medial	lateral	zentral	medial	lateral	zentral	medial	lateral	zentral	medial
I	1	2,00±0,58	1,29±0,49	2,14±0,90	1,29±0,49	1,14±0,38	1,57±0,54	2,29±0,49	3,14±1,57	1,71±0,49	2,00±1,00	3,00±1,16	1,29±0,49
	2	2,00±0,00	2,75±0,96	1,75±0,50	1,00±0,00	0,75±0,50	1,25±0,96	2,50±1,00	3,25±0,96	2,00±0,82	1,75±0,96	2,75±0,96	1,75±0,50
II	1	1,29±0,95	1,71±1,25	1,86±0,38	0,57±0,79	0,29±0,49	0,57±0,53	1,14±0,90	1,57±0,54	1,29±1,11	0,29±0,49	1,00±1,00	1,29±1,11
	2	0,50±0,58	1,50±1,29	1,75±0,50	0,25±0,50	0,50±0,58	1,25±0,50	1,0±0,00	1,75±0,50	1,25±0,50	1,00±1,41	2,25±0,50	0,75±0,96
III	1	2,71±0,49	2,14±0,69	1,71±0,49	1,57±0,79	1,29±0,49	1,43±0,98	1,71±0,49	2,00±0,57	1,57±0,54	1,00±0,58	1,14±0,69	1,00±0,58
	2	2,00±0,00	1,50±0,58	1,75±0,50	1,50±0,58	1,75±0,50	1,50±0,58	2,00±0,00	1,75±0,50	1,75±0,50	1,25±0,50	1,75±0,50	1,50±0,58
IV	1	0,71±0,49	1,00±0,00	1,00±0,00	0,43±0,54	0,43±0,54	0,71±0,49	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	0,86±0,38	1,00±0,00	0,86±0,38
	2	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	0,50±0,58	0,25±0,50	0,75±0,50	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	0,75±0,50
Total	1	6,71±1,60	6,14±1,77	6,71±1,49	3,86±1,07	3,14±1,07	4,29±1,80	6,14±0,69	7,71±2,06	5,57±1,27	4,14±1,57	6,14±1,77	4,43±1,90
	2	5,50±0,58	6,75±2,06	6,25±0,96	3,25±0,96	3,25±0,96	4,75±1,89	6,50±1,00	7,75±1,26	6,00±0,00	5,00±1,63	7,75±0,50	4,75±1,25

Tab. 11: Korrelationsanalyse nach Pearson, Knorpelveränderungen nach Mankin, Humerus und Glenoid in verschiedenen Zonen

Zonen	RH1	RH2	RH3	RG1	RG2	RG3	LH1	LH2	LH3	LG1	LG2	LG3
RH1												
RH2												
RH3												
RG1												
RG2												
RG3												
LH1												
LH2												
LH3												
LG1												
LG2												
LG3												

Abkürzungen: R, rechts; L, links; H, Humerus; G, Glenoid; 1, lateral; 2, zentral; 3, medial; dunkelblau, signifikant negative Korrelation ($p < 0,05$), blau, negative Korrelation; dunkellila, signifikant positive Korrelation ($p < 0,05$); lila, positive Korrelation

Tab. 12 Korrelationsanalyse nach Pearson, Durchbruchstellen der Tidemark-Linie, Humerus ung Glenoid in verschiedenen Zonen

Zonen	RH1	RH2	RH3	RG1	RG2	RG3	LH1	LH2	LH3	LG1	LG2	LG3
RH1												
RH2												
RH3												
RG1												
RG2												
RG3												
LH1												
LH2												
LH3												
LG1												
LG2												
LG3												

Abkürzungen: R, rechts, L, links; H, Humerus; G, Glenoid; 1, lateral; 2, zentral; 3, medial; dunkelblau, signifikant negative Korrelation (p<0,05), blau, negative Korrelation; dunkellila, signifikant positive Korrelation (p<0,05); lila, positive Korrelation

Danksagung

Ich danke herzlich

Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg für die Überlassung eines interessanten Themas, für die hervorragende fachliche aber auch genauso gute menschliche Betreuung während der ganzen Doktorandenzeit. Und ganz besonders danke ich für die Erklärung der „Mankin Score des Lebens“

Prof. Dr. med. vet. Dr. h. c. Jörg Auer für seine unermüdliche Unterstützung der MSRU

Prof. Dr. med. Christian Gerber für die Übernahme des Koreferates

Dr. med. Matthias Zumstein für die freundliche Zusammenarbeit an diesem Projekt und fachlichen Input bei der Auswertung der Studie

Käthi Kämpf, Sabrina Wunderlin und Kati Zlisnky für eine nette und tatkräftige Unterstützung im Labor bei der Herstellung histologischer Schnitte

Mathias Haab und Anita Hug für einen freundlichen fachkundigen Support bei der Anfertigung von Bildern und Fotos für das Manuskript

dem ganzen **MSRU-Team** für schöne Zeit, die ich heute noch vermisse. Mein besonderer Dank geht an **Sven Nilson** für seine unersetzliche Hilfe im MSRU-Alltag, vor allem bei Probenaufbereitungen, und an **Dr. Karina Klein** für die herzliche Doktorandenbetreuung, Anleitung in der Statistik, geduldiges Ausbessern von „Lena-Deutsch“, und vor allem für ihren freundschaftlichen Beistand in manch schwieriger Lebenslage

meiner Familie und vor allem **meinen Eltern** dafür, dass sie meine Entscheidung, diesen Weg zu gehen akzeptierten, mich dabei unterstützten, an mich glaubten, und mich ihre Nähe trotz einer Entfernung von mehreren Tausend Kilometer immer spüren ließen

meinem Ehemann Oliver für seine nahezu grenzenlose Liebe, seine starke Schulter und unseren gemeinsamen Traum

Lebenslauf

Name	Elena Salesov, geb. Kossova
Geburtsdatum	9. August 1978
Geburtsort	Schachta, Russland
Staatsangehörigkeit	Deutsch
Familienstand	verheiratet, keine Kinder

Veterinärmedizinische Tätigkeiten

ab 01.2008	Doktorandin in der MSRU (Musculoskeletal Research Unit), Departement für Pferde der Vetsuisse Fakultät Universität Zürich, Schweiz
01.2009 -05.2010	Assistentin und Residentin ACVIM, Klinik für Kleintiere, Justus-Liebig-Universität Gießen, Deutschland
12.2007 – 12.2008	Assistentin für Kleintiere, Tierklinik Nesslau GST, Schweiz
10.2006 – 09.2007	Internship (Kleintiermedizin), Veterinärmedizinische Universität Wien, Österreich
04.2004 – 09.2006	Wissenschaftliche Mitarbeiterin, Institut für Parasitologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Deutschland
04.2001 – 04.2003	Famulantin, Medizinische und Gerichtliche Veterinärklinik der Justus-Liebig-Universität Giessen, Abteilung Innere Krankheiten der Pferde

Berufsausbildung und Hochschulstudium

10.2000 – 03.2004	Studium der Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Gießen, Deutschland (Approbation am 12.01.2005)
08.1998 – 02.2000	Ausbildung zur umwelttechnischen Assistentin, Lore-Lorentz-Schule Berufskolleg der Stadt Düsseldorf, Deutschland
09.1995 – 07.1997	Studium der Veterinärmedizin, staatliche landwirtschaftliche Akademie der Region Ural in Ekaterinburg, Russland

Schul Ausbildung

09.1985 - 06.1995	Allgemeinbildende Mittelschule in Nishni Tagil, Russland (Abschluss: allgemeine Hochschulreife)
-------------------	---

06.07.2010